

157218

**T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**Bioparçalanabilir Jelatin Maddesi ile
Yavaş 5 Florourasil Salınımının
Fleksör Tendon Onarımı Üzerindeki Etkileri:
Tavuk Modelinde DeneySEL Çalışma**

Dr. Mehmet V.KARAALTIN

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr.Abdullah KEÇİK

ANKARA

2004

Karaaltın V.M. , Bioparçalanabilir Jelatin Maddesi ile 5 Florourasil yavaş Salınımının Fleksör Tendon Onarımı Üzerindeki Etkileri : Tavuk Modelinde Deneysel Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. Ankara 2003.

ÖZET

Bu çalışmada, 5 Florourasilin değişik konsantrasyonlarda bioparçalanabilir jelatin maddesine yükleyerek yavaş ve kontrollü salınımı ile fleksör tendon iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştırdık.

Çalışmada 2 – 2.5 ağırlığında 30 adet Leghorn cinsi erişkin beyaz tavuk kullanıldı. 5 Florourasil farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri ebatları 10× 20× 1 mm' lik (en , boy, kalınlık) jel filmleri içerisine yüklenip 10, 20, 30 mg 'lık dozlarda hazırlandı. 5 Florourasil içermeyen jel filmleri kontrol grubunda kullanmak üzere hazırlandı. Tüm gruplarda sağ alt ekstremitte çalışılıp, FDP tendonu tam kat kesilip, Modifiye Kessler yöntemi ile onarıldı. Ayaklar alçıya alınıp 3 hafta immobilizasyon sağlandı. Üçüncü haftanın sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edilip bacakları ampute edildi. 3.parmak biomekanik ölçüm için, 4. parmak histolojik inceleme için kullanıldı. Bu aşamadan sonra örnekler 6 gruba ayrıldı. İlk 3 grupta kontrol, diğer 3 grup ise çalışma gruplarını oluşturmaktaydı. Grup1 (n=6); 30 hayvandan rastgele seçilmiş cerrahi geçirmeyen sol ayaklardan oluşan kontrol grubu. Grup 2 (n=6) tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol grubu. Grup 3 (n=6); tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel ile sarılan kontrol grubu. Grup 4

(n=6); 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubu. Grup 5 (n=6); 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubu. Grup 6 (n=6); 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubu.

Örnekler patoloğ tarafından sinovyal yapışıklık skorumla yöntemi ile değeriendirildi ve Grup 4, diğeri gruplarla istatistiksel farklılık gösterdi. Grup 2 ile karşılaştırıldığında adezyon skorlarında azalma saptandı ($p=0.009$, $p<0.05$). Elektron mikroskopide incelenen kesitlerde Grup 4 te fibroblast hücreleri aktif idi, kollajen sentezi ve fibril düzeni uniformdu. Grup 2’de ise kollajen fibrilleri düzensiz idi. Biomekanik angüler rotasyon testinde tüm gruplar değeriendirildiğinde Grup 4, Grup 2 ile farklılık gösterirken ($p=0.002$, $p<0.05$), Grup 4 açısal değeri ($\angle:76.3^\circ$, $SS:3.01^\circ$) cerrahi geçirmeyen grup ile yakınlık gösterdi ($\angle 80.8^\circ$, $SS:2.3^\circ$).

Bu çalışmada, 10 mg 5 Florourasil ile jelatin maddesi kullanarak, 5 Florourasilin düşük dozda yavaş salınımını sağlayarak, fleksör tendon iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu, ve bu uygulama ile tendon adezyonlarının daha etkin bir şekilde önlenebileceğini saptadık.

Anahtar kelimeler : *5 Florourasil, Jelatin, Yavaş salınım, Fleksör tendon, Adezyon*

ABSTRACT

Karaaltın V.M., The Effects of 5 Fluorouracil on Flexor Tendon Healing by Using a Biodegradable Gelatin Slow Releasing System: Experimental Study in a Chicken Model. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Plastic and Reconstructive Surgery, Ankara 2003

Adhesion formation after flexor tendon injury is an challenging problem for hand surgeons. Recent studies focus on various methods in preventing such adhesions. Topical application of 5 Fluorouracil shows promising results in preventing tendon adhesions. In this study, we planned to apply 5 Fluorouracil via a slow releasing gelatin system and investigated it's effects on flexor tendon healing. Gelatins were prepared in 10X20X1 mm size and loaded with 10, 20 and 30 mg 5 Fluorouracil. 30 adult white Leghorn chickens weighing between 2 and 2.5 Kg were used. The flexor digitorum profundus tendon to the third and fourth toe were severed and primarily repaired using modified Kessler technique. Study groups were: Group 1 (n=6); randomly selected from 30 animals, six non-operated left lower extremities. Group 2 (n=6); operative control. Group 3 (n=6); repaired tendons with the application of 5 Fluorouracil free gelatin films. Group 4 (n=6); gelatin films loaded with 10 mg 5 Fluorouracil. Group 5 (n=6); gelatin films loaded with 20 mg 5 Fluorouracil. Group 6 (n=6); gelatin films loaded with 30 mg 5 Fluorouracil. The repaired extremities were casted and immobilized for 3 weeks. After sacrificing study groups, tendons were examined with light microscopy and electron microscopy to evaluate the adhesion formation histologically, and with biomechanical angular rotation test to asses tendon gliding. Results revealed that group 4 showed

apparent decrease in adhesion formation when compared with operative control group ($p=0.009$, $p < 0.05$). Histologic analysis also showed that use of gelatin film enabled an uniform application of 5 Fluorouracil which led to a uniform decrease in adhesion in the synovial space. In electron microscope examination, group 4 showed active fibroblast cells and collagen synthesis. Collagen fibrils were uniformly oriented. In group 2 the collagen fibrils were disorganized. Group 6 showed high activity and inflammation. In biomechanical angular rotation test, results of group 4 in comparing to group 2 were statistically different ($p=0.002$, $p < 0.05$). The mean angular values of group 4 (76.3° , SD:3.01) were approaching mean angular values of non-operative control group (80.8° , SD: 2.3)(group 6). This study showed that low dose application of 5 Fluorouracil via the slow releasing gelatin system have a promising effect on flexor tendon healing in regarding adhesion formation and functional results after injury.

Key words: 5 Fluorouracil, Gelatin, Flexor tendon, Slow releasing, Adhesions

İÇİNDEKİLER**SAYFA**

ONAY SAYFASI

ii

ÖZET

iv-v

ABSTRACT

vi-vii

İÇİNDEKİLER

viii-x

Simgeler ve Kısaltmaları

xi-xii

Şekiller

xiii-xiv

Tablolar

xv

Grafikler

xvi

1.Giriş

1

2.Genel bilgiler

5

2.1 Tarihçe

5

2.2.Fleksör tendonunun anatomik yapısı

7

2.3.Tavuk fleksör tendonunun anatomisi

13

2.4.Fleksör tendonunun histolojik yapısı

16

2.5.Tendonun embriyolojik gelişimi

19

2.5.1.Fetal tendon fibrillogenezi
İntrasellüler basamak

20

2.5.2 Kollajen fibril segmentlerinin yapısı ve oluşumu	22
2.5.3. Fetal tendon fibrillogenezi Hücre dışı basamak	24
2.5.4. Kollajen fibrillerinin uzaması	26
2.6.Fleksör tendonun yara iyileşmesi	28
2.6.1.Fleksör tendon yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin rolü	29
2.6.2. Tendon iyileşmesindeki evreler	30
3.Gereç ve Yöntem	37
3.1. Jelatin filmlerin hazırlanışı	37
3.2.Deney grupları	41
3.3.Cerrahi yöntem ve jelatin filmlerin yerleştirilmesi	43
3.4.Histolojik inceleme	48
3.5.Elektron mikroskopik inceleme	50

3.6.Biomekanik angüler rotasyon testi	50
3.7.İstatistiksel Analiz	53
5.Bulgular	54
5.1.Işık mikroskopi bulguları	54
5.2.Elektron Mikroskopi bulguları	59
5.3.Biomekanik angüler rotasyon testi bulguları	62
6.Tartışma	65
7.Sonuç	73
8.Kaynaklar	74

Simgeler ve Kısaltmalar:

RNA	: Riboz nukleik asit
DNA	: Deoksiriboz nukleik asit
mRNA	: Messenger RNA
N	: Azot
F	: Florür
H	: Hidrojen
O ₂	: Oksijen
FCR	: Fleksör karpi radyalis tendonu
FPL	: Fleksör pollisis longus tendonu
FCU	: Fleksör karpi ulnaris
FDS	: Fleksör digitorum superfisyalis
FDP	: Fleksör digitorum profundus
PIP	: Proksimal interfalangeal eklem
IP	: İnterfalangeal eklem
MCP	: Metakarpo falangeal eklem
nm	: Nanometre
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
µg	: Mikrogram
mL	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
g	: Gram
cc	: Santrimetre küp
A _{ort}	: Absorbance coeficient
Gly	: Glisin aminoasit
RER	: Granüllü endoplazmik retikulum
IGF-I	: İnsulin like growth factor-I

TGF-β	: Transforming growth factor –beta
VEGF	: Vascular endothelial growth factor
PDGF	: Platelet-derived growth factor
bFGF	: Basic fibroblast growth factor
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
UV	: Ultraviyole ışın
5 FU	: 5 Florourasil
n	: Deney grup sayısı
Ȑ	: Ortalama değęer
SS	: Standard Sapma değęeri
•	: Derece birimi



Şekiller:

Şekil 1. Florourasilin moleküler yapısının şematik görünümü.

Şekil 2. Verdan'ın tarifine göre fleksör tendonların eldeki anatomik bölgeler.

Şekil 3. Fleksör tendon kılıfının pulley sistemi.

Şekil 4. Tendonun vasküler sistemi (vinkular sistem).

Şekil 5. Tavuk fleksör tendonunun anatomisi.

Şekil 6. Alfa polipeptid zincirinin moleküler yapısı. Alfa zincirde her üç aminoasitten biri daima glisin olacak şekildedir (x-y-**Gly**).

Şekil 7. Alfa zincirin üç boyutlu şematik görünümü.

Şekil 8. Tropokollajen molekülünün uzaydaki üçlü heliks yapısının Şematik görünümü.

Şekil 9. Tendon fasiküllerinin dizilimini gösteren çizim.
(*Fibril tendonun en küçük yapı taşıdır*).

Şekil 10. Fetal tendon fibrillojenezi : hücre dışı basamak.

Şekil 11. N-N bipolar kollajen fibrillerinin büyüme paterni.

Şekil 12. Jelatin filmler 10x20x1 mm (en,boy,kalınlık) boyutlarında hazırlandı.

Şekil 13. Ayakların platforma tespiti.

Şekil 14. Dijital bloğun yapılışı.

Şekil 15. Volardan cilt flebinin kaldırılması.

Şekil 16. Modifiye Kessler yöntemi ile tendon onarımı

Şekil 17. Tendon çevresine jelatin filmin yerleştirilmesi.

Şekil 18. Cilt flebinin kapatılması

Şekil 19. Ekstremitenin alçıya alınması.

Şekil 20. Angüler rotasyonu ölçmek için kullanılan düzenek.

Şekil 21. Tavuk ayağının düzenek üzerine yerleştirilmesi ve angüler rotasyon açısı değerinin ölçümü.

Şekil 22. 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubundan (Grup 4), üç hafta sonrası tendon onarım bölgesinden alınan kesit. Oklar hafif fibrozis ve geniş alanda açık olan sinovyal aralığı göstermektedir (X 10 büyütme).

Şekil 23. 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubundan (Grup 5), üç hafta sonrası tendon onarım bölgesinden alınan kesit. Oklar, kılıftan köken alan kollajen lifler ile oblitere olan sinovyal aralıkları işaret etmektedir (X 10 büyütme).

Şekil 24. 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubundan (Grup 6), üç hafta sonrası tendon onarım bölgesinden alınan kesit. Oklar, belirgin olan fibrozisi ve tam olarak kapalı olan sinovyal aralığı göstermektedir (X 10 büyütme).

Şekil 25. 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubunun (Grup 4) elektron mikroskopi görüntüsü. F, aktif fibroblast hücresi ; GER, granüllü endoplazmik retikulum; R, fibroblast hücresinin girintileri ; Beyaz ok, kollajen lifleri. (X 5000 büyütme).

Şekil 26. Cerrahi kontrol grubunun (Grup 2) elektron mikroskopi görüntüsü. Dağınık kollajen lifleri okla işaretli. F, fibroblast (X 5000 büyütme).

Şekil 27. 30 mg 5 Florourasil içeren grubun (Grup 6) elektron mikroskopi görüntüsü. F, Fibroblast hücresi (5000 X büyütme).

Tablolar:

Tablo 1 . Tendon iyileşmesinde gerçekleşen fazlar.

Tablo 2. Jelatin filmlerin hazırlanış etapları.

Tablo 3. Çözeltilerin absorpsiyon miktarları

Tablo 4. Deney Grupları

Tablo 5. Tendon adhezyon Skorlaması

Tablo 6.Gruplardaki tendon adezyon skorlaması

Tablo 7.Tüm gruplarda ölçülen angüler rotasyon testinin açısı
(derece), ($\bar{U}$) ortalama ve (SS)Standard sapma değerleri.

Tablo 8. **Ki kare** testi ile elde edilen **P** değerleri.

Tablo 9. **Mann Whitney U** testin ile elde edilen **P** değerleri.

Grafikler:

Grafik1.Konsantrasyona karşı absorbans değerlerinin grafik eğrisi.

Grafik 2.Ortalama patolojik skora göre deney gruplarının dağılımı.

Grafik 3.Angüler rotasyon açısı değerlerine göre deney gruplarının dağılımı.



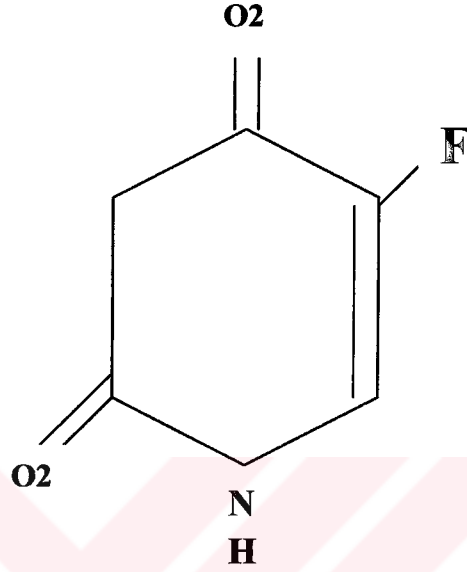
1.Giriş:

Tendon onarımları günümüzde sık uygulanan ameliyatlar arasındadır. Cerrahların tüm özen ve dikkatine rağmen postoperatif dönemde ortaya çıkan fonksiyonel sorunlar, araştırmacıları tendon iyileşmesi ile ilgili çalışmalara yöneltmiştir. Postoperatif dönemde karşılaşılan temel sorunlardan biri olan yapışıklıklardan tendon ve tendon kılıfı çevresinde proliferen olan fibroblastların sorumlu olduğu bilinmektedir.

Önceki yıllarda, tendon iyileşmesinin sadece dışarıdan içeriye göç eden fibroblastlar tarafından gerçekleştirildiği öne sürülmüştür. Ekstrinsik tendon iyileşmesi baskın olduğu durumlarda, tendonun skarlı iyileşmesine ve çevre dokular ile adezyonlar gelişmesine neden olur (1) ancak Lundberg, tavşan diz eklemine sinovyumunu izole edip iyileşmesini gözlemleyerek intrinsik bir iyileşme mekanizmasının varlığını da öne sürmüştür (1, 2). İntrinsik mekanizma ile iyileşmenin varlığı bir çok araştırmacı tarafından da gösterilmiş ve bu tip iyileşme ile tendon hareketlerini kısıtlayan yapışıklıkların ortaya çıkmadığı kanıtlanmıştır (3 –7). Bu nedenle ekstrinsik iyileşmeyi yavaşlatacak veya inhibe edecek bir mekanizma, tendon adezyonlarının oluşumunu engelleyebilir.

Ekstrinsik fibroblastlara direkt etki edebilecek farmakolojik bir ajan, tendon adezyon oluşumunu etkin bir şekilde engelleyebilir ve tendon ekskürsiyonu korunur. Adezyon formasyonunu engellemek için bir çok farmakolojik ajanla çalışılmıştır. Steroidlerin, antihistaminlerin ve beta-aminopropionitrilin tendon adezyonu üzerine etkili olmadıkları gösterilmiştir (9, 10). İbuprofen ve indomethasinin adezyonlara karşı etkilerinin ise düşük olduğu bulunmuştur (11, 12). İdeal bir ajan, kullanımı kolay, direkt olarak hedef hücrelere etki eden ve lokal uygulamalarda sistemik yan etkileri az olan bir ilaç olmalıdır. 5 Florourasil bu özellikleri taşıyan farmakolojik ajandır.

Anti neoplastik bir ajan olan 5 Florourasil, primidin analogu olarak bilinir (Şekil 1) ve hücre içine girdiğinde RNA ve DNA metabolitlerine dönüşür (5-floro-2-deoksiuridin- 5 fosfat ve 5-florouridin trifosfat). Birinci metabolit timidin sentetaz enzimine bağlanır ve DNA sentezini inhibe eder, ikinci metabolit ise RNA strüktürüne girip RNA fonksiyonunu engeller. Bu etkiler büyük ölçüde hızlı çoğalan hücrelerde görülür. Fibroblast hücreleri üzerindeki etkisinin hangi mekanizma ile gerçekleştiği tam olarak bilinmemektedir.



Şekil. 1 Florourasilin moleküler yapısının şematik görünümü.

5 Florourasil'in glokom filtrasyon cerrahisinde fokal skar oluşumunu önlediği gösterilmiştir. Blumenkranz ve arkadaşları hücre kültürlerinde 5-Florourasil'in, fibroblast hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini ve retinal skar dokusunu azalttığını göstermişlerdir. Kültür hücrelerinde tek bir uygulamayla 36 günlük bir proliferatif sürecin supresyonu sağlanmıştır (13, 14). Fitzpatrick R, 5 Florourasil hipertrofik skar dokusu ve keloid üzerindeki etkilerini araştırmış, klinikteki uygulamalarını ve deneyimlerini aktarmıştır (15). Aynı

şekilde bir çok hayvan modelinde 5 Florourasilin fleksör tendon iyileşmesindeki etkisi araştırılmıştır (15,16,18). Ancak bu çalışmalarda, 5 Florourasil değişik dozlarda tek bir seferde sünger yöntemi ile sürüntü şeklinde beş dakika süre ile tendonlara uygulanmıştır. Bu çalışmanın amacı ise 5 Florourasilin yavaş ve kontrollü salınımı ile, tendon iyileşmesinin üzerindeki etkisinin araştırılması ve klinikte uygulanabilirliğinin gösterilmesidir.



2.Genel Bilgiler:

2.1. Tarihçe:

Kleinert'ın araştırmalarına göre, tendon cerrahisi Galen ile başlamıştır (19). Gladyatörlerin cerrahı olan Galen, tendonların sinir ve ligaman karışımı olduğunu iddia etmişti ona göre, sinirler tıpkı tendonlar gibi beyaz bir ip şeklinde kas içerisinde sonlanır. İlk tendon onarımını öneren Avicenna'dır. Tendonun cerrahi olarak onarılması ancak 1752 yılında Albrecht von Haller tarafından gerçekleştirilmiştir (19). Yıllar içerisinde bilimin ilerlemesi ve tendon onarımında alınan kötü sonuçlar nedeniyle, tendon iyileşmesi ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır. Mayer 1916 'da tendonun kanlanması ve avasküler bölgelerini tanımlamış, Bunnel ise ilk olarak "No man's land" terimini kötü iyileşen fleksör tendon zonu için kullanmıştır (19). Mason tendon onarımında primer ve sekonder suture tekniklerini tariflemiş (19), Verdan 1959'da değişik fleksör tendon zonlarında farklı prognostik sonuçların olduğunu belirtmiş (19), Kleinert ise 1967'de zon iki (No man's land) onarımında çok iyi sonuçlar aldığını rapor etmiştir (20).

Potenza, tendon iyileşmesini araştırmış ve iyileşmenin dışardan gelen fibroblastlar tarafından ekstrinsik olarak gerçekleştirildiğini ve bu

nedenle de yapışıklığa yol açtığını iddia etmiştir (19). Lundborg ise tendonun intrinsik iyileşme mekanizmasını göstermiştir (21) Manske, Strickland detaylı bir şekilde tendon iyileşmesini (ekstrinsik ve intrinsik iyileşme) büyüme faktörlerinin tendon iyileşmesi üzerindeki etkisini, tendon suture tekniklerini, fibronektinin rolünü, erken hareketin iyileşme üzerindeki etkisini ve tendon doku mühendisliğini araştırmışlardır (22,23).

Önceki yıllarda, tendon iyileşmesinin sadece dışardan içeriye göç eden fibroblastlar tarafından gerçekleştirildiği öne sürülmüş, ancak Lundborg, tavşan diz ekleminin sinovyumunu izole edip iyileşmesini gözlemleyerek intrinsik bir iyileşme mekanizmasının varlığını öne sürmüştür (1, 2). İntrinsik mekanizma ile iyileşmenin varlığı bir çok araştırmacı tarafından da gösterilmiş ve bu tip iyileşme ile tendon hareketlerini kısıtlayan yapışıklıkların ortaya çıkmadığı kanıtlamıştır (3,5-7). Bu bilgiler ışığında, sinovya kaynaklı, ekstrinsik iyileşme mekanizmasının baskın olduğu durumlarda, tendonun çevre dokulara yapışıklıklarının artığı gözlenmektedir.

2.2.Fleksör tendonunun anatomik yapısı:

Kaslar kemik origosundan başlayarak, tendonları vasıtasıyla, kompleks bir sistem içerisinde eklemlere ulaşırlar. Daha önceden bahsedildiği gibi tendonlar yoğun, metabolik olarak aktif kollajen liflerinden oluşmaktadır. Bu liflerin oriyantasyonu gerilme güçlerinin vektörlerine paralel olacak şekildedir. Tendonlar güçlü bir yapıya sahip olmalarının yanı sıra üstün bir kayganlık yeteneğine de sahiptirler. Mikroskopik incelemelerde, tendonlar çok az miktarda tenosit, az miktarda sinovyal hücre, öte yandan çok miktarda interselüler matriks içerirler. Bu matrikste yüksek miktarlarda tip I kollajen ve daha düşük düzeyde tip III ve IV kollajen ile elastin lifleri vardır (23). Endotenon tendon fasiküllerini sarıp, proksimalde perimisyum distalde periostium ile devamlılık gösterir. Şayet tendon sinovyal kılıf içerisinde ise, tendonun dış tabakasına "epitenon" adı verilir. Epitenon tabakası vasküler ağ ve hücreler ile oluşan bir yapıdır. Eğer tendon ekstrasinovyal yerleşimde ise dış tabakası "paratenon" olarak ad değiştirir. Kan damarları bu tabaka içerisinde uzunlamasına seyreder (23).

Tendonlar değişik hacim ve derinlikte bulunurlar. El bileği fleksör tendonları fleksör karpi radialis (FCR) ve fleksör karpi ulnaris (FCU) kalın ve güçlüdür. Baş parmak uzun fleksörü (FPL) ile diğer parmakların

fleksörleri (derin,yüzeysel) üç katman şeklinde karpal tünel içerisinde ilerleyerek insersiyolarına uzanırlar. Orta ve yüzük parmağın fleksör digitorum superfisyalis (FDS) tendonları en üst katmanda bulunur.Onun altında işaret ve küçük parmağın FDS tendonları gider. En derinde ise baş parmağın FPL'si ile dört parmağın fleksör digitorum profundus (FDP) tendonları ilerler. Bazen beşinci parmağın FDP'si eksiktir. Çoğunlukla işaret parmağın FDP'si ile FPL arasında bant bulunur. Bu bant bazen değişik klinik belirtilere neden olabilmektedir (23).

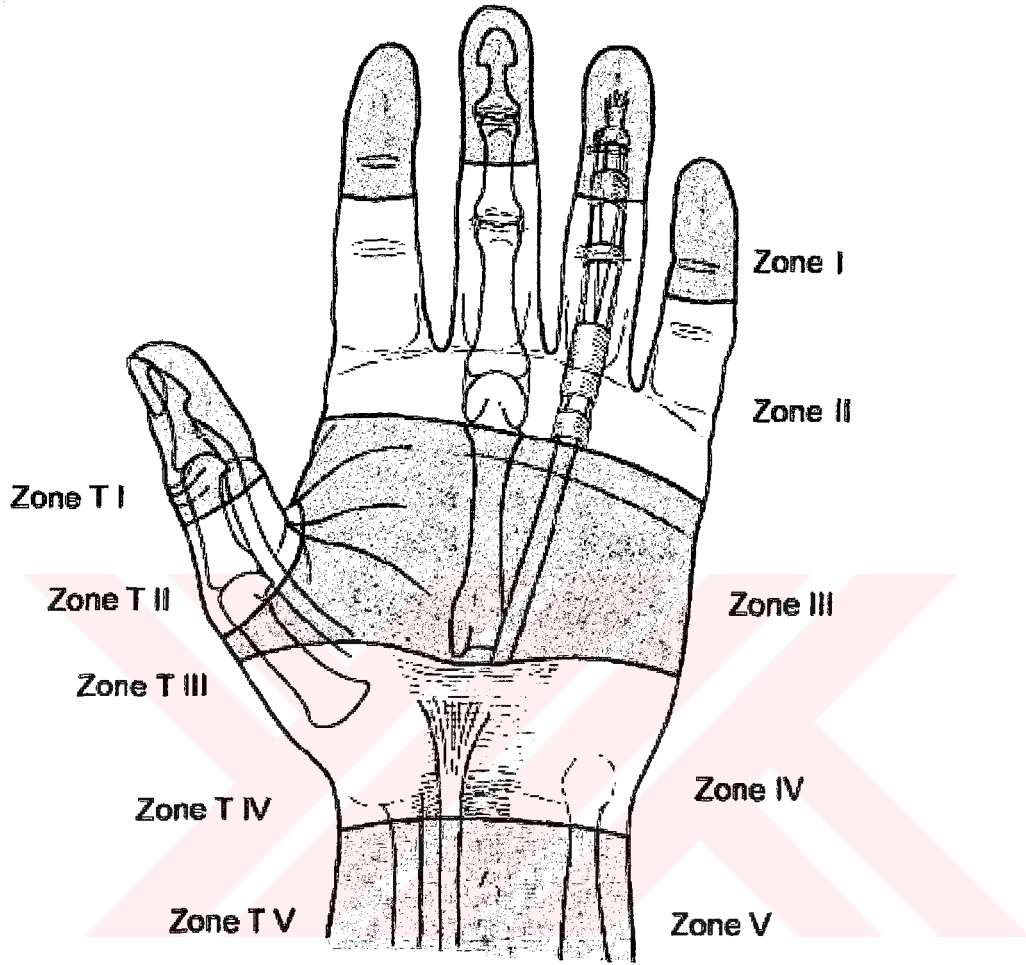
Parmakların proksimalinde superfisyalis tendonlarından iki lif ayrılıp, dorsalden gelen profundus tendonunun volara geçiş kapısını sağlar. Her iki ayrılan superfisyal lif tekrardan 180° açı ile FDP'nin altından döner, Camper kiazması olarak birleşirler ve orta falanksın ortasına primer proksimal interfalangeal eklem (PIP) fleksörü olarak insersiyoyu yaparlar. Lumbrikal kaslar elde palmar bölgede FDP tendonlarından origo alırlar, ilerliyerek metakarpofalangeal eklemin volarinden, interfalangeal eklemin (IP) dorsaline gider ve son olarak proksimal falanksın ekstansör sistemine yapışırlar. FDP tendonları distal interfalangeal eklemin distaline insersiyoyu yaparlar. Lumbrikal kasların kasılması MCP eklemden fleksiyon, IP eklemden ekstansiyona yol açar.

Verdan, fleksör tendonların elde anatomik zone olarak tarifleyen beş bölgeye sınıflamıştır (24)(Şekil2). Zon I FDS tendonunun insersiyosunun distalinden başlar ve sadece profundusu içerir. Zon II ise tendon kılıfının A1 pulley sisteminin proksimalinden başlar ve FDS insersiyosuna uzanır. Bu bölge Bunnel tarafından "No man's land" olarak adlandırılmıştır (19). Zon III distal palmar kriz den başlar, karpal tünelin distal krizinde biter. Zon IV karpal tüneli içerir, bu bölgede median sinir parmakların fleksör tendonları ile komşuluk yapar. Bu bölgeyi Beasley "Düşman hattı" olarak tarif etmiştir, çünkü bu bölgede fleksör tendonların onarımı zor olup yapışıklıklar ile sonuçlanır (23). Zon V ise karpal tünelin proksimalinden başlar ve ön kolda devam eder. Baş parmakta ise, zone I IP eklemin distalindedir, Zon II, proksimal falanks üzerinde A1 pulleyin proksimalinden IP eklemine kadar uzanır, Zon III tenar eminansta sınırlıdır. Zon IV ve V ise diğer parmaklardaki gibidir.

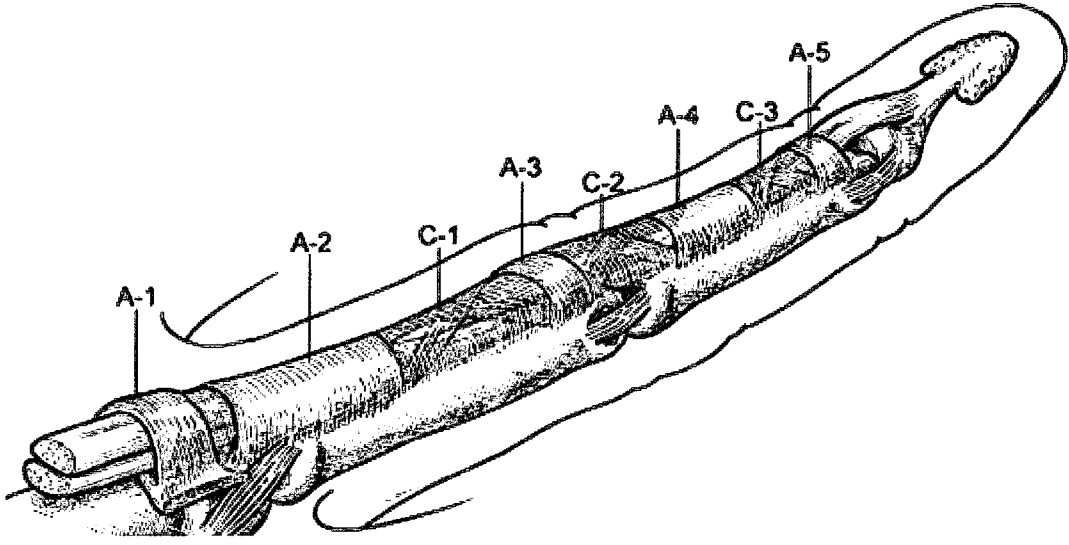
Dijital fibro-osseöz kılıf ise bir çok katmandan oluşan, içerisi sinovyal tabaka ile kaplı periostan origin alan ve fleksör tendonları saran bir sistemdir. Kılıf hyaluronan ve proteinden zengin olan kayganlaştırıcı bir sıvı salgılar. Bu sıvı tendonun hareketini kolaylaştırması yanı sıra nutrisyonunu da sağlamaktadır. Bu sistem palmar krizin distalinden başlar ve DIP ekleminin distalinde sonlanır. Doyle ve Blythe pulley sistemini detaylı bir şekilde tanımlamışlardır (25). Pulley sistemi tendon kılıfın kalınlaşmış fibröz bantlarından oluşur ve temel olarak tendonların

hareketinde yay teli (bowstringing) durumunun oluşmasını engeller, böylece sabit bir moment vektörü sağlar.İnsan fleksör kılıf sisteminde beş annüler (A) pulley, üçte ince çapraz (C) pulley vardır (Şekil 3). Baş parmakta iki annüler (A) pulley, proksimal ve distal falenks arasında ise bir oblik pulley vardır. Bu oblik pulley en önemli olanıdır ve dolayısıyla baş parmakta korunması gereken pulley sistemidir. Palmar bölgede palmar fasyadan oluşan ayrı bir pulley sistemi var. Bu pulley sistemi A1 pulley sisteminin proksimalinde yer alır (23).

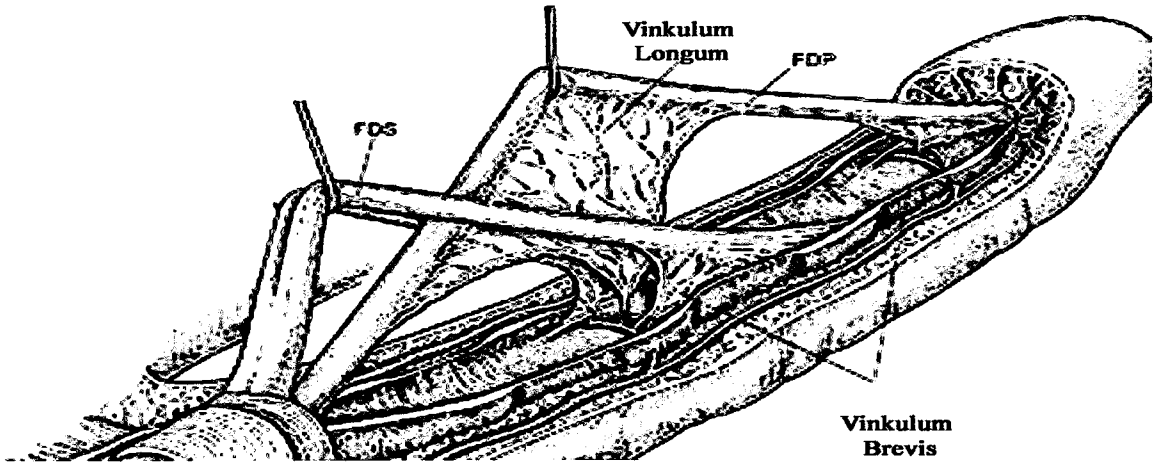
Tendon kılıfı içerisindeki vasküler ağ mesotenon içerisinde seyreder, tendon ve tendon kılıfını besler. Bu vasküler mesentere Vinkulum adı verilir (Şekil 4). Her FDP ve FDS tendonu için iki vinkula vardır. Vinkulalar vasküler ağını dijital arterden alır, vinkulaların arasında bir de avasküler bölge vardır. Tendon beslenmesini vinkulumun yanı sıra sinovyal sıvıdan diffüzyon ile de sağlar (23).



Şekil 2.Verdan'ın tarifine göre fleksör tendonların eldeki anatomik bölgeler.



Şekil 3.Fleksör tendon kılıfının pulley sistemi .



Şekil 4. Tendonun vasküler sistemi (vinkular sistem).

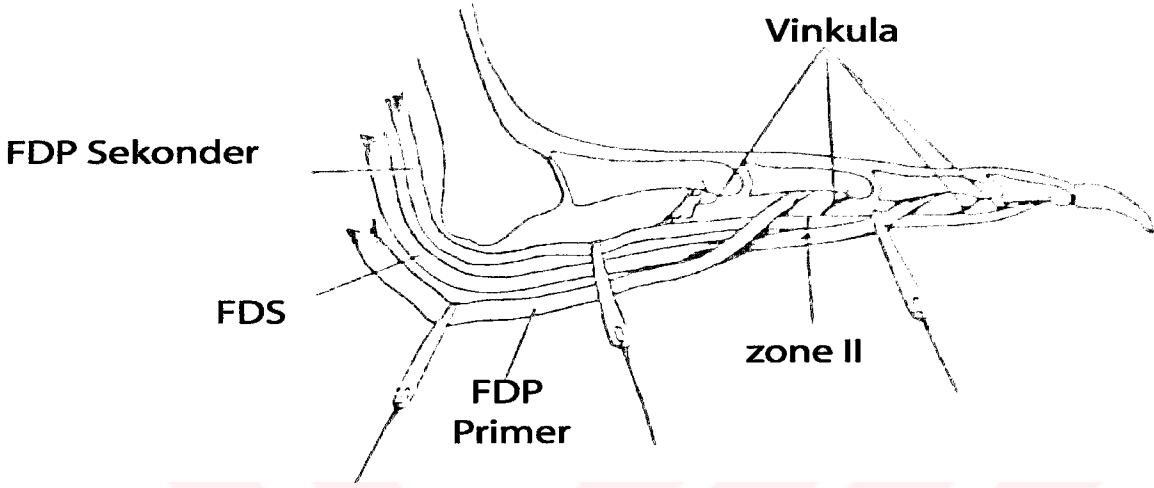
2.3.Tavuk fleksör tendonunun anatomisi :

Fleksör tendon deneylerinde Bir çok hayvan modeli kullanılmaktadır. Tavuk modeli ise fleksör tendon adezyon oluşumlarının araştırılmasında uygun bir seçenek olarak kabul edilmektedir. Bunun nedeni ise, tavuk fleksör tendonunun uzun bir zon 2'ye sahip olması, Tendon büyüklüğünün çalışmacıya kolaylık sağlaması, hayvanın ucuz olması ve bakımının kolay olmasıdır (23, 25).

Tavuk fleksör tendonu morfolojik ve anatomik yönden insan fleksör tendon sistemi ile farklılık göstermektedir. Örneğin, Tavuk fleksör profundus tendonu insan fleksör profundus tendonuna göre daha yassıdır. Bir diğer farklılığı ise tavukta iki adet bulunmasıdır. Bunun yanı sıra tavuklar üç adet vinkuler sisteme sahip olup her bir tendon ayrı bir vinkuler sistemden beslenmektedir. İnsanlarda ise sadece iki adet vinküler sistem bulunmaktadır (23).

Tavuk fleksör tendonunun anatomisine baktığımızda (Şekil 5), iki fleksör profundus ve bir fleksör digitorum superfisyalis tendonu vardır. En volardeki tendon'a fleksör digitorum profundus primer adı verilir. En dorsalde yerleşene ise sekonder adı verilir. Proksimal falanks

seviyesine geldiğinde primer tendon iki ayrı bölüme ayrılır. Daha dorsalde bulunan fleksör digitorum superfisyalis ve fleksör digitorum profundus sekonderi çevireliyerek distalde birleşirler ve proksimal kiazmayı oluştururlar. Fleksör digitorum profundus primer'in distalde birleşen iki bölümü proksimal falanksın ortasına yapışarak sonlanır. Fleksör digitorum profundus primer metatarsopofalengeal eklemin fleksiyon hareketinden sorumludur. Daha dorsalde bulunan fleksör digitorum superfisyalis tendonu ise distale ilerleyerek orta falanks seviyesinde iki bölüme ayrılıp fleksör digitorum profundus sekonder tendonunu çevireleyerek distal kiazmayı oluşturur. Distalde birleşen iki bölüm orta falanksın ortasına yapışarak sonlanır. Fleksör digitorum superfisyalis tendonu proksimal interfalengeal eklemin fleksiyon hareketinden sorumludur. En dorsalde bulunan fleksör digitorum profundus sekonder ise distal kiazmanın içinden ilerleyerek distal falanksın proksimal kısmına yapışarak sonlanır. Fleksör digitorum profundus sekonder ise distal interfalengeal eklemin hareketinden sorumludur (23).



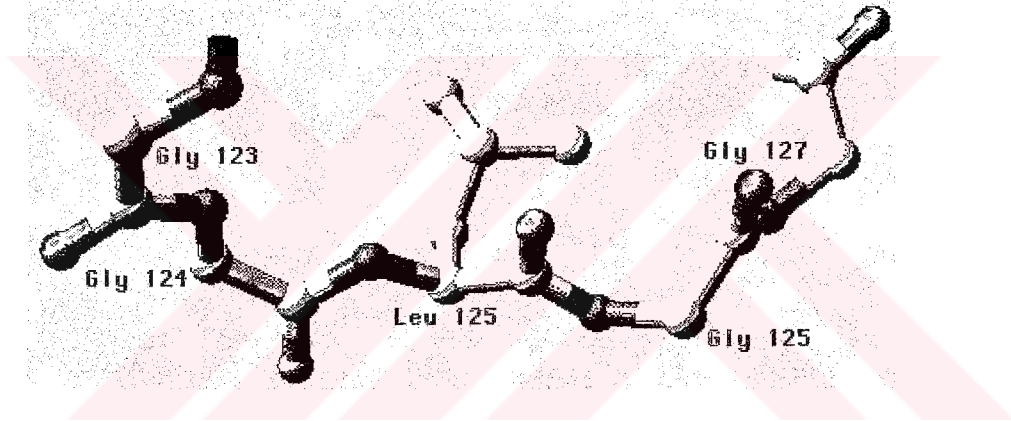
Şekil 5. Tavuk fleksör tendonunun anatomisi.

2.4. Fleksör tendonunun histolojik yapısı:

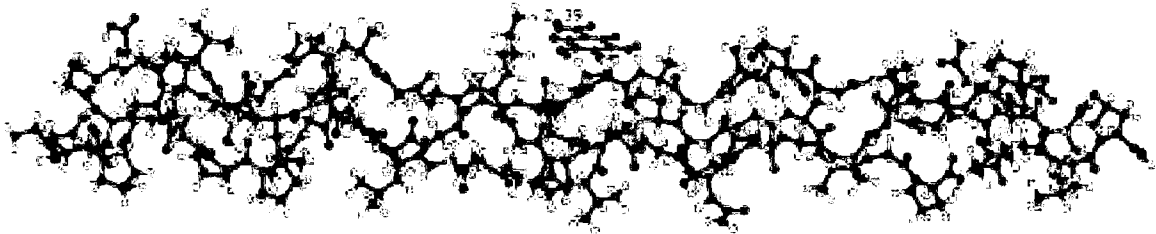
Bilindiği gibi kollajen vücutta en çok bulunan proteindir. Cilt ve kemik dokusunun major protein yapısını oluşturur. Kollajen'e özgün 20 üzerinde gen bulunmuştur (26), kollajen liflerinin bir çok tipi vardır, bağ dokusunun yapısında temel olarak I, II, III, VI ve XI tipleri bulunmaktadır (kollajen liflerinin polimerizasyonu ile fibriller oluşur). Tendonlarda en çok tip I kollajen bulunmaktadır (27). Tendon boyu boyunca transmisyon elektron mikroskopisinde boyu boyunca ardaşık 6-7 nm'lik bantlar şeklinde veya D-periyodik diziliminde bulunurlar (26,28). Kollajen temel olarak üç üniteden oluşmaktadır, bu ünitelere tropokollajen adı verilir. Her tropokollajen üç polipeptid zincirden oluşur ve yaklaşık 1000 aminoasit içerir. Bu polipeptid zincirleri üçlü (heliks) helezon şeklini alırlar (triple heliks). Tip I tropokollajen iki alfa1 ve bir alfa 2 polipeptid zincirinden oluşmaktadır. Bu üç polipeptid zinciri iminoasit hidroksiprolin ve glisin arasında oluşan hidrojen bağları sayesinde stabil üçlü heliks şeklini alır. Glisin en küçük aminoasit üyesi olarak bilinmektedir ve her zincirde düzenli bir (sırada) şekilde üçüncü aminoasit olarak yerini alır (Şekil 6,7,8) (26).

[Gly-Glu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Ala-Lys-Gly-Pro-Ala-Gly-Asn-Hyp-Gly-Ala-Asp-Gly-Gln-Hyp] α_1
 [Gly-Glu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Ala-Gly-Ala-Lys-Gly-Pro-Ala-Gly-Asn-Hyp-Gly-Ala-Asp-Gly-Gln-Hyp] α_1
 [Gly-Glu-Val-Gly-Leu-Hyp-Gly-Leu-Ser-Gly-Pro-Val-Gly-Pro-Hyp-Gly-Asn-Ala-Gly-Pro-Asn-Gly-Leu-Hyp] α_2 .

Şekil 6. Alfa polipeptid zincirinin moleküler yapısı. Alfa zincirde her üç aminoasitten biri daima glisin olacak şekildedir (x-y-Gly).

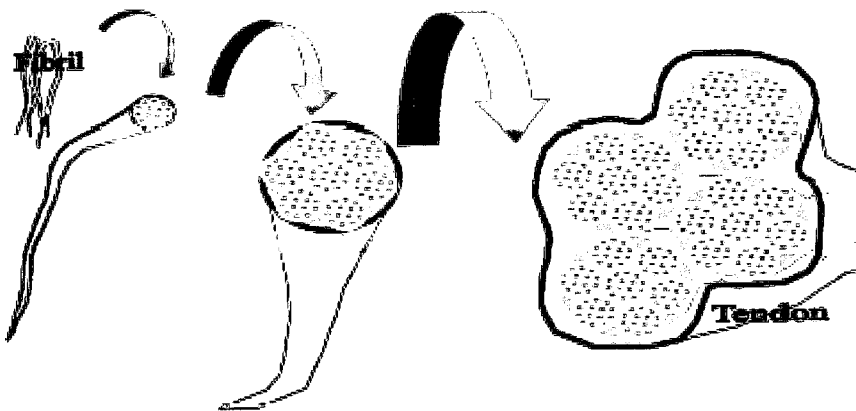


Şekil 7. Alfa zincirinin üç boyutlu şematik görünümü.



Şekil 8. Tropokollajen molekülünün uzaydaki üçlü heliks yapısının şematik görünümü.

Tropokollajen ünitesi 300 nm boyunda ve 1.5 nm çapındadır, globüler telopeptidler ise üçlü-heliks yapısının her iki ucunda bulunmaktadır. Tendon liflerinin kimyasal ve fiziksel yapısı tendonun fonksiyonel yapısını açıklamaktadır. Kollajen lifleri tendonun temel yapı taşlarını oluşturmaktadır, bu lifler genellikle tendonda (longitudinal) boylamasına bir dizilim gösterirler ve çekim kuvvetine paraleldirler ancak bazen spiral veya horizontal bir şekilde bulunabilirler (29). Bir çok kollajen fibrilinin birleşimi ile kollajen lifi oluşur ve bu liflerin birleşimi ile tendon fasikülü oluşmaktadır. Matür tendon fasiküllerinde tendon fibroblastları (Tenositler) düşük yoğunlukta bulunurlar. Sonuç olarak tendon fasiküllerinin birleşmesi ile tendon oluşmaktadır (Şekil 9).



Şekil 9. Tendon fasiküllerinin dizilimini gösteren çizim
(Fibril tendonun en küçük yapı taşıdır)

Tendon kayganlık özelliğine sahip bir kılıf ile örtülüdür(Tendon kılıfı). Tendonun en dışında bulunan hücre tabakasına epitenon adı verilir. Epitenon, tendon fasiküllerini çevreleyen hücre tabakası ile (Endotenon) devamlılık gösterir.

Tendon kastan kemiğe lineer bir vektörde kuvvet taşımaktadır. Elin fleksör tendonları kaba ve yüksek güç gerektiren hareketlerin kuvvet vektörlerini taşımaya yardım ederken(örn.uzun sopa ile vurmak) aynı şekilde, ince ve koordinasyon gerektiren hareketlerde yardım ederler(örn. müzik aleti çalmak). Tendon normal günlük işlevlerde yüzlerce kez karmaşık hareketlerini kendi sinovyal kılıfı içerisinde kaygan bir zeminde gerçekleştirmektedir. Tendonun bu özellikleri kompleks yapısı ile ilişkilidir.

2.5.Tendonun embriyolojik gelişimi:

Kollajen fibrillerin polimerizasyonu ve dizilimi (fibrillogenezi) tendon embriyolojik gelişiminde önemli olduğu kadar erişkin tendon iyileşmesinde de önemlidir. Tendon iyileşmesi ile tendonun embriyolojik gelişimi (fibrillogenezi) bir çok ortak yolda birleşirler.

Tendon fibroblastlarının primer işlevi kollajen liflerinin üretimini ve idamesini sağlamaktır. Fetal dönemde de ise tendon kollajen liflerinin oluşumu sofistike bir işlemle fibrillerin paralel dizilimi ile oluşur (30). Fetal fibroblastların plazma membran yüzeyi, fibrillerin paralel, organize ve basamaklı bir şekilde dizilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (31-33).

2.5.1.Fetal tendon fibrillogenezi (İntrasellüler basamak):

Başlangıçta tendon fetal gelişimi temel olarak hücre içi üretim basamakları ile sınırlıdır. Çekirdekte, prokollajen alfa-zincirinin genlerinin mRNA'ya transkripsiyonu gerçekleştirildikten sonra, endoplazmik retikulumda (RER), poliribozom aracılığı ile mRNA'nın pro-alfa-zincir polipeptidlerine translasyonu gerçekleşir, böylece polipeptid zincirleri bir araya gelir ve üçlü heliks (triplehelix) formu oluşur. Posttranslasyonel modifikasyon ise pro-alfa-zincirinde bulunan özgün prolin ve lisin aminoasitlerinin hidroksilasyonu ve özgün hidroksilisin aminoasitlerinin glikozilasyonu şeklindedir. Glikozilasyon galaktoz ve glukoz şekerlerinin hidroksilisine kovalan bağlar ile bağlanması şeklinde gerçekleşir. Üç polipeptid zincirinin çevrilmesi ve üçlü heliks yapısının oluşması, hidrosiprolin aminoasitlerine bağlıdır. Bu aminoasitler kritik sayıya ulaştıklarında posttranslasyonel modifikasyon tamamlanır, böylece hidrosiprolinin zincir içi ve zincirler arası oluşturduğu hidrojen

bağları ile üçlü heliks yapısı stabilize hale gelir ve tip I prokollajen molekülü oluşur.

Prokollajen N-terminal ve C-terminalde globüler propeptidler içerirler ve bu propeptidler özgün metaloproteinaz peptidazlar tarafından sindirilmektedir (26, 34). Bu propeptidlerin bir veya her ikisinin selektif olarak kaldırılması kollajen fibrillerin polimerizasyonunu başlatır ve bu polimerizasyonda ilk basamak olarak tanımlanır (33). Propeptidlerin sindirilmesi sonucu tropokollajenler oluşur. Tam olarak işlenmiş tropokollajenlerin uçlarında kısa ve heliks şeklini almayan telopeptidler bulunur (35). Yapılan çalışmalarda bu telopeptidlerin selektif olarak parçalanması ile fibrillerin birleşmesi sağlanır, ancak rasgele veya simültane olan her iki uçtaki telopeptidlerin yıkımı bu birleşmeyi gerçekleştiremez (26). Yukarıda belirtildiği gibi tropokollajenler kollajen fibrillerinin temel yapı taşlarını oluşturmaktadır. In vitro tropokollajen monomerlerinin birleşmesi ile fibriller oluşur. Varsayım olarak, tropokollajenlerin kendi kendine birleşmesi tendon tamirinde kollajen liflerinin regenerasyonunda anahtar mekanizma olarak kabul edilmektedir. Kollajen fibrillerinin bulunması ve tendon kollajen liflerinin embriyolojik gelişiminin araştırmasıyla, daha önceden kabul edilen tropokollajenlerin direkt olarak hasarlı bölgeye entegre olması fikri artık kabul görmemektedir (36, 30).

2.5.2 Kollajen fibril segmentlerinin yapısı ve oluşumu:

Tendon gelişiminde, kollajen fibrilleri kollajen liflerinin temel yapı taşlarıdır (31,37). Tavuk tendonunun fetal gelişiminde, hücre içi vakuollerde paralel şekilde dizilmiş kollajen monomerleri elektron mikroskopi ile gösterilmiştir (31). İn vitro olarak doku kültürü ile elde edilmiş 14 günlük tavuk embriyo fibroblastlarında uzun segmentli prokollajen agregatlar vakuoller içerisinde görüntülenmiştir (38,39). Bu vakuoller içerisinde bulunan prokollajen agregatları daha sonra hücre dışına salınır ve fibroblastların hücre dışı girintilerine yerleşir. Aynı zamanda bu hücre dışı girintilerinde yeni oluşmuş kollajen fibril segmentleri bulunur. Serbest uçlara sahip olan bu fibril segmentleri prokollajenlere bağlanarak daha uzun segmentli fibriller oluşur (33). Bu fibril segmentleri 7-15 μm boyunda olup asimetrik uçlara sahiptirler. Kollajen fibril segmentleri lineer veya lateral bir şekilde birleşirler ve son olarak tendon fibrilleri oluşur.

Kollajen fibril segmentlerine moleküler yapısı açısından baktığımızda, iki özellikli uca sahiptirler. Bir ucu (alfa) sivri olup 5 μm boyunda, diğer ucu (beta) ise künt olup 2 μm boyundadır (40). Unipolar ve bipolar kollajen fibril segmentleri fetal dokudan izole edilmişlerdir (26,41). Unipolar fibril segmentleri N-terminal (α -ucu) ve C-terminal

(β -ucu) sahiptirler ve fibril içerisinde bütün tropokollajen monomerleri aynı yönde ve aynı nizamda dizilirler. Bunun aksine, bipolar kollajen fibril segmentlerinde, her iki uç (alfa ve beta) N-terminal şeklindedir ve bu nedenle tropokollajen monomerlerinin antiparalel oryantasyonda bulunmaları gerekir. Bu antiparalel oryantasyonun bulunduğu bölge geçiş bölgesi (Transition zone) veya moleküler değişim bölgesi olarak adlandırılır. Geçiş bölgesi bant paterninin oluşmasına neden olur, bu bant patterni elektron mikroskopi ile gösterilmiştir. Geçiş bölgesi segmentin orta kısmında bulunmak zorunda değildir. Karakteristik olarak normal D-periyodik görünümde bu bölgede kaybolur. C-C terminaline sahip bipolar kollajen fibrili ise bulunamamıştır (26).

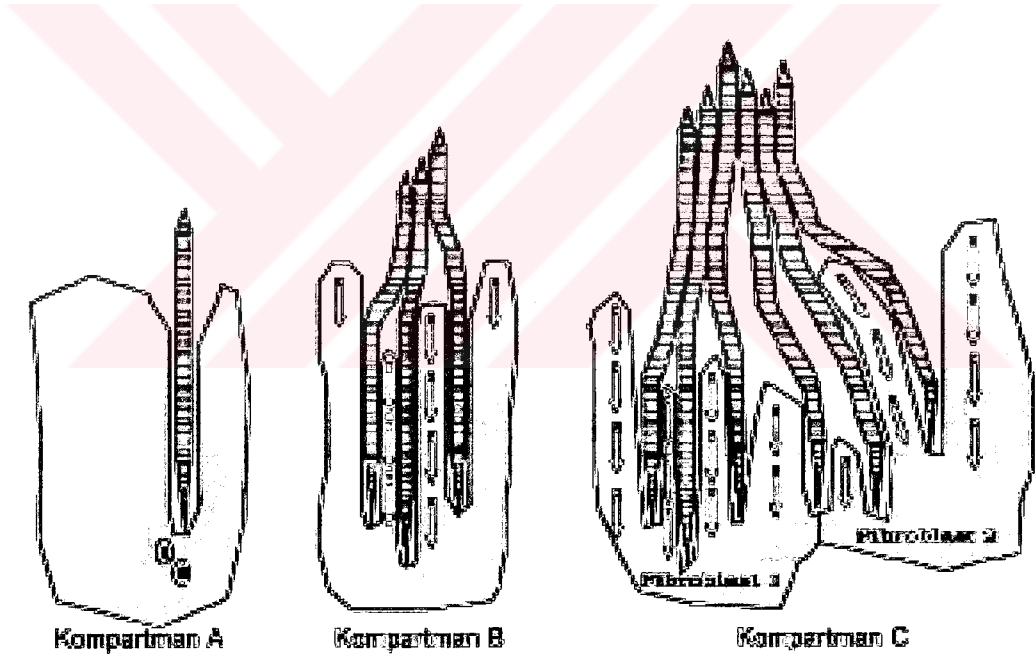
14 günlük tavuk embriyosunda, kollajen fibrilleri 10-35 μ m boyunda, 40 nm çapında olup, iki asimetric uca sahiptirler. Bu fibriller büyük çoğunlukla bipolar şeklindedirler (42). Bipolar kollajen fibril segmentleri unipolar segmentlerden daha uzundur. Fetal tendon, erken gelişim evresinde, öncül 1-3 μ m boyutlarında kısa unipolar ve bipolar segmentler içerir. Gelişim evresinin ilerlemesi ile bu segmentler uzamaya başlar ve değişik boyutlara ulaşırlar (43). Embriyolojik gelişimdeki bu incelemeler tendon iyileşmesine de ışık tutabilir ve iyileşme mekanizmasını araştıran çalışmalara yön gösterebilir.

2.5.3. Fetal tendon fibrillogeneksi (Hücre dışı basamak) :

Seri olarak çekilen elektron mikroskopi mikrograf kesitlerinde, fetal tendon fibrillogeneksinde, embriyolojik tendon fibroblastlarının plazma membranlarının önemini ortaya koymaktadır. Hücre girintilerinde bir ile üç kollajen fibrili bulunabilir. Bu girintiler invaginasyon veya yarık şeklinde fibroblastların dış zarında bulunurlar, kompleks bir yapıya sahiptirler ve fibrillerin birleşmesinde önemli bir rol üstlenirler. Bu yapıları inceleyen daha detaylı bir çalışmada (44) yüksek voltajlı emisyon elektron mikroskopi ile incelenen 0.5- μm – 0.75 μm kesitlerde, embriyolojik tendon fibroblastlarında üç ayrı hücre dışı kompartıman gösterilmiştir. A kompartımanında, kollajen fibrilleri oluşur. Plazma membranın bir parçası olarak görülen bu kompartıman sitoplazma ile çevrilidir. Yukarıda belirtildiği gibi bir ile üç kollajen fibrili içerebilir. Fibrillerin organizasyonu ve dizilimi bu kompartımanda başlar.

B kompartımanında ise, bir çok fibril bir araya gelir ve kollajen demeti oluştururlar. Bu demetler tendonun "morfojenetik" ünitesi olarak tanımlanır. C kompartımanında, bir çok kollajen morfojenetik ünitesi bir araya gelir ve üç boyutlu organizasyon başlar. Bu bilgiler ışığında görüldüğü gibi, fibroblastlar primer olarak tendonun yapısal organizasyonunu ve dizilimini yönetir (44). Kollajen yapılarının bir

kompartımandan diğerkompartımana geçişi, fibroblastların plasman membranlarının retraksiyon hareketleri ile gerçekteşir (33,44). Bu retraksiyon hareketleri giderek büyüyen fibrillerin kompartımandan uzaklaşmasını sağlar, aynı şekilde komşu kompartımanlarda serbest kalan fibriller, diğerkompartımanlardaki fibriller ile birleşirler ve böylece uzunlamasına büyüyen kollajen demetleri enine büyüme de gösterirler (şekil 10).



şekil 10. Fetal tendon fibrillogeneksi : hücre dışı basamak.

A kompartımanının plazma membranı perinükleer organeller ve Golgi aparatı ile bağlantılıdır (33). Golgi'den ayrılan vakuoller, prokollajen segmentlerini kompartımanlara taşır ve bölgede bulunan peptidazlar ile sindirilip dışarı salınırlar (26). B kompartımanı bir veya

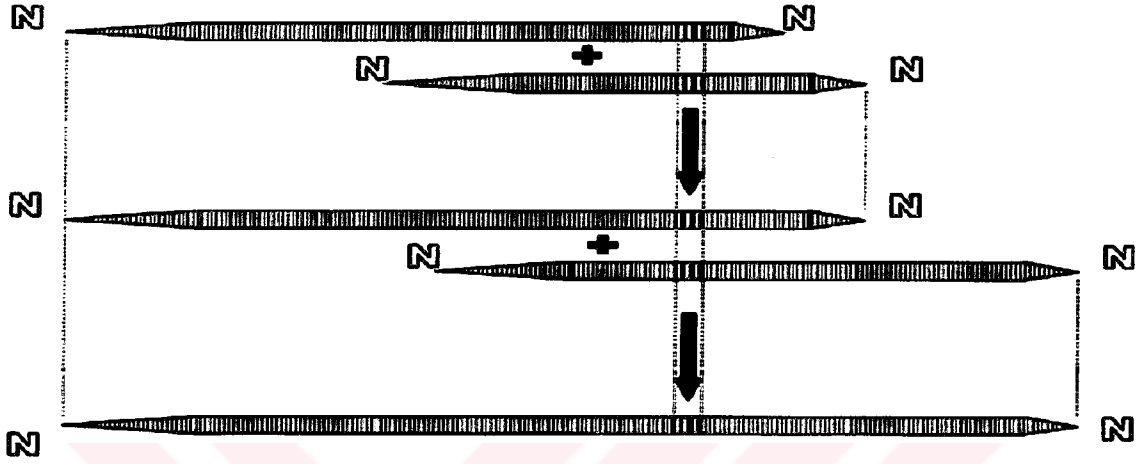
yan yana iki fibroblastın birleşmesi ile oluşur. Fibrillogenesis işleminin ilerlemesi ile kollajen demetleri oluşur ve birleşmesi C kompartımanında gerçekleşir. Bu kompartımanın oluşmasından en az iki veya üç fibroblast sorumludur (45). Bir çok fibroblastın bu işlemde aynı anda yer alması, işlemin ne kadar koordine ve düzenli olduğunu göstermektedir.

2.5.4. Kollajen fibrillerinin uzaması:

In vitro olarak, Tip I kollajen fibrillerinin büyümesi tek yönde olup N-terminal ucu doğrultusundadır. Kollajen fibril uçlarının geometrisi bu fibrillerin birleşmesinde önemlidir (46) sivri olan N-ucu (beta), kollajen segmentlerinin uzamasında kritik bir rol oynar (42). Bipolar segmentlerde uzama her iki uçta olabilir (47), daha önceden de belirtildiği gibi hem uçlardan hem de lateralden fibril segmentlerine eklemeler olabiliyor, ancak bir çok çalışmada gösterildiği gibi, uzama affinitesi çoktan aza doğru şu şekilde sıralanabilir : sivri uç, künt uç ve saft (47). Yukarda anlatılan bilgiler ışığında kollajen fibrilleri uzar ve sonuç olarak tendon lifleri meydana gelir.

Tendon oluşumundaki bu karmaşık, aşamalı yol acaba hangi mekanizma ile kontrol edilmektedir ? Bu soru bir çok çalışmada yanıtlanmaya çalışılmıştır. Bir araştırmacıya göre bu mekanizma makromolüküllerin ard arda birleşmesi, ayrılması ve tekrar birleşmesi ile

kontrol edilmektedir, yani başka bir deyiş ile kollajen fibril segmentlerinin uzamasında stabilizasyon, destabilizasyon ve son olarak tekrardan stabilizasyon mekanizmaları sorumludur. Yeni oluşmuş kollajen fibrilleri makromoleküller tarafından stabilize edilip, yeni segmentlerin eklenmesi engellenir. Tekrar koordineli bir mekanizma ile makromoleküller segmentlerden ayrılır ve bunun sonucu olarak fibril segmentleri destabilize hale gelirler. Destabilize olan bu segmentler komşu segmentlerle birleşir ve kollajen fibrilde tekrar uzama ve enine genişleme sağlar, ardından tekrar makromoleküller uzayan fibrillere bağlanır ve stabilize hale getirir böylece uzamayı durdurur (49). Yapılan çalışmalarda, düzenleyici makromolekül olarak iki glikosaminoglikan bulunmuştur. Bunlar dekorin (42,48,50) ve fibromodulin'dir (48,49,51). Protein makromoleküller işlenmemiş tip I prokollajen ve diğer kollajen tiplerinden baz alır. Diğer tipler : pN kollajen (C-propeptidi çıkarılmış olan prokollajen) (50, 51), tip III kollajen (52), tip XII kollajen (28), tip XIV kollajen (40), tip VI kollajen (49) ve tip XI kollajenlerdir(28). N-N bipolar kollajen fibril segmentlerinin fibril büyümesindeki fonksiyonu hala tartışma konusu yaratmaktadır, ancak yapılan son çalışmalarda, fibrillerin lateral yönde uzamasını sağladıkları gösterilmiştir, zira tüm lateral segmentlerde N-N bipolar fibriller bulunmuştur. N-N bipolar kollajen segmentlerinin en önemli özelliği her iki yönde büyüme göstermesidir (Şekil 11), bu özellik tendon iyileşmesi sırasında kesilen tendon uçlarının birleşmesinde avantaj sağlayabilir (53).



Şekil 11. N-N bipolar kollajen fibrillerinin büyüme paterni.

2.6.Fleksör tendonun yara iyileşmesi:

Tendon fibroblastlarının primer işlevi kollajen liflerinin üretimini ve idamesini sağlamaktır. Fetal dönem de ise tendon kollajen liflerinin oluşumu sofistike bir işlemle fibrillerin paralel dizilimi ile oluşur (30). Fetal fibroblastların plazma membran yüzeyi, fibrillerin paralel, organize ve basamaklı bir şekilde dizilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (30-32). Günlük tendon aktivitelerinde, yerleşik tendon fibroblastları (Tenositler) kollajen liflerin kalıcılığını sağlar (54). Tendon yaralanmasından sonra ilk yanıt tendon fibroblastlarının travma

bölgesine göç etmesidir. Yaralanma bölgesinde hasar görmüş kollajen lifleri (debris) fibroblastlar tarafından sindirilir, yerine yeni organize edilmiş ve paralel şekilde dizilmiş kollajen lifleri üretilir (36,55,56).

2.6.1.Fleksör tendon yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin rolü:

Tendon iyileşmesi, diğer dokularda olduğu gibi oldukça karmaşık ve bir çok hücre medyatörünün katkıda bulunduğu bir işlemdir. Büyüme faktörleri yara iyileşmesinde en önemli moleküler grubu teşkil etmektedir ve bu faktörlerin rolü ile ilgili bir çok araştırma yapılmıştır. Tendon iyileşmesi ile ilgili ise karakteristik olarak beş büyüme faktörü üzerinde durulmuştur. Bunlar : insulin like growth factor-I (IGF-I), transforming growth factor-beta (TGF- β), vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet-derived growth factor (PDGF) ve basic fibroblast growth factor (bFGF) dür. Tüm bu faktörlerin seviyesi tendon yaralanmasında up regulasyon ile yükselir ve tendon iyileşmesinin bir çok aşamasında etkin olarak yer alırlar. Bir çok tendon iyileşmesi ile ilgili hayvan çalışma modelinde IGF-I faktörünün enflamatuar fazda yükseldiği gösterilmiştir. IGF-I temel olarak fibroblastların göçünü, proliferasyonunu ve sonuç olarak kollajen sentezinin artmasını sağlar. TGF beta ise enflamasyon evresinde artar ve aynı şekilde proliferasyon ile hücre göçünü düzenler. Buna ilave olarak fibronektinin kollajene

bağlanmasını sağlar. VEGF ise enflamasyon evresinden sonra ortaya çıkar ve anjiogenezi stimüle eder. PDGF ise hemen yaralanmanın ardından kısa bir süre içinde ortaya çıkar ve kemotaktik ajan olarak diğer büyüme faktörlerinin iyileşme bölgesine gelmelerini sağlar. PDGF ayrıca, remodeling işleminde de rol almaktadır Bir çok in vitro ve in vivo çalışmada bFGF araştırılmış ve çok güçlü bir anjiojenik stimülatör olduğu görülmüştür. Diğer bir işlevi ise hücrelerin proliferasyonunu ve göçünü kontrol etmektir (57).

2.6.2. Tendon iyileşmesindeki evreler :

Tendon iyileşmesi üç fazdan oluşur: Enflamatuvar faz, Fibroblastik kollajen sentez fazı ve remodeling/maturasyon fazı. Bu üç aşamada spesifik eleman ve faktörlerin önemi değişik görüşlerde, varyasyon göstermektedir. Bu varyasyonlar yapılan değişik çalışmalarda Tablo 1 deki şekilde özetlenmiştir (58-60).

Enflamatuvar faz, tendon yaralanmasında öncül yanıt olarak başlar ve lökosit ile fibroblast hücrelerinin yaralanma bölgesine göçünü yönetir. Epitenon'da hücre göçü, tendon yaralanmanın 7 ile 10'cu gününde maksimum düzeye ulaşır. Hücre göçü 17'ci günde azalmaya başlar (61,62). Bu aşamada Hyaluronan (Hyaluronik asit) yara bölgesinde birikmeye başlar ve yara iyileşmesinin kalitesini etkileyebilir (4). Hyaluronan'ın kalıcı miktarlarda birikmesi, yaranın skarsız

iyileşmesini sağlayan faktörlerden biri olabilir. Bir çalışmada, Hyaluronan konsantrasyonlarının artırılması ile, intrinsik tendon iyileşmesinin etkilenmediği gösterilmiştir (63).

Fibroblastik faz birkaç hafta sürebilir (58). Epitenon hücreleri proliferer olur, diferansiasyon gösterir, fagositik sitoplazmik vakuoller oluşturur (56,64,3). İlk önce, tendon iyileşme aralığına göç eden fibroblastlar, uzun tendon aksına çevresel bir oryantasyon gösterirler (56). Yaralanmanın ikinci haftasında, fibroblast proliferasyonu, kesilmiş tendon ucunu saran kalın ve çok sayıda hücreden oluşan bir katmana neden olur. Daha sonra, ince kollajen lifleri arasına endoplazmik retikulumdan zengin fibroblastlar girer. Dördüncü haftada, epitenon'un yüzeyine yakın olan fibroblastlar özellikli bir üretim fenotipi gösterirler, aynı zamanda matür olmayan kollajen lifleri ile ilişkilidirler. Daha derinde olan fibroblastlar ise daha kalın kollajen lifleri ile ilişkilidirler. Sekizinci haftada ise, üç fibroblast fenotipi iyileşmenin katmanlarını belirler. Yüzeysel katmanda, yeni üretilmiş kollajen lifleri ile sarılı etkin fibroblastlar vardır. İyileşmenin orta katmanında ise, uzun eksene paralel dizilmiş ve daha olgulaşmış kollajen lifleri ile sarılmış etkin fibroblastlar izlenir. Derin katmanda ise, çok sayıda vakuol içeren fagositik fibroblastlar ile bantlaşma gösteren kollajen lifleri gözlenir (56).

Bu katmanlara benzer bir görünüm tendon embriyogenizisinde de izlenir. Katmanlara paralel olarak kollajen liflerinde de bir iyileşme gradyanı vardır. Dıştakiler daha çok ince, kırılgan ve matür olmayan kollajen fibrillerden oluşur iken, derinde daha kalın ve olgun kollajen lifleri yer alır.



Çalışma	FAZ BİR	FAZ İKİ	FAZ ÜÇ
Hamson, 1971 (53)	Eksidasyon/Fibrinöz birleşme: 1-5/gün,seröz sıvının birikmesi, lokal ödem,kırılgan tendon uçları,iyileşme aralığının fibrinöz köprülerle bağlanması.Fibroblastlar büyük ve düzensiz.	Fibroplazi: 6-16/gün,hücre proliferasyonu,matriks oluşumu,pıhtının organizasyonu,epitenon proliferasyonu, iyileşme aralığına göç, endotenon hücre bölünmesi,debrisin fagositozu,periferik arteriol oluşumu, fibronektin/tip I ve III Kollajenin ortamda birikmesi	Organizasyon/olgunlaşma: 17 /gün itibaren ve sonrası. Kallus gelişimi, uzunlamasına dizilmiş fibroblastlar, fibronektin ve kollajen III'ün azalması, tip I kollajen oranının artması, skar dokusunun tendon dokusuna benzemesi.
Stuart et al.,1995(57)	Enflamatuar faz: 3/gün. Tip I ve III kollajen sentezi olur.	Onarım fazı: Fibroblastlar proliferasyon gösterir, Tip I kollajen üretilip iyileşme aralığına yerleşir.	Remodeling fazı: Kollajen sentezi azalır, kollajen lifleri uzunlamasına oriyente olur, histolojik olarak 20 haftada iyileşme aralığı özgün tendon yapısına benzer.
Wickland,1999	Enflamatuar faz: 3-5/gün.İyileşme aralığı ekstrinsik peritendinöz hücreler, epitenon ve endotenon hücreler ile dolar, fagositoz dominanttır, yeni kollajen sentezi olur.	Fibroblastik/kollajen üretim fazı: 6 gün - 6 hafta. Epitenon ve endotenon fibroblastların repliferasyonu, kollajen sentezi,fibroblast/kollajen in tendon uzun aksına paralel oriyente dizilişi. Kırılma gücü artar.	Remodeling/matürasyon fazı: 6 hafta-9 ay. Kollajen üretimi devam etmektedir, kollajen lifleri ve fibroblastlar uzunlamasına oriyente olmuştur, Kırılma gücü daha da artar.

Tablo 1 . Tendon iyileşmesinde gerçekleşen fazlar.

Katmanlara paralel olarak kollajen liflerinde de bir iyileşme gradyanı vardır. Dıştakiler daha çok ince, kırılğan ve immatür kollajen fibrillerden oluşur iken, derinde daha kalın ve olgun kollajen lifleri yer alır. Epitenon fibroblastlar, proliferasyon ile göçü başlatır (29,4,65,66). Yapılan çalışmalarda, iyileşen tendonda, epitenon bölgesinin periferinde bulunan fibroblastlar lokal hareket yeteneğine sahiptirler. Öte yandan geri kalan fibroblastlar ise makrofaj'a benzer özelliklere sahiptirler (64,65) sonuç olarak, epitenon fibroblastları kollajen üretimine endotenon fibroblastlardan önce başlar. Yaralanmanın altıncı ayında, kollajen liflerinin kalitesi, histolojik yapısı ve oriyantasyonu intakt tendon kollajen liflerine benzer (67) tıpkı erişkindeki remodeling fazı sonucu ortaya çıkan kollajen lifleri gibi. Kollajen liflerinin parsiyel proteolitik parçalanması, regeneratif onarımın bir parçasıdır (68). Kollajen liflerinin parçalanma işlemi ise sıkı bir hücrel kontrol altında gerçekleşir (68). Proteolitik parçalanmanın en önemli fonksiyonlarından biri ise, üretilmiş kollajen liflerinin kimyasal olarak aktif olan uçlarının açığa çıkması ve kesilmiş tendon uçlarına eklenmesidir (68). Bu işleme benzer bir işlem tendonun embriyolojik gelişiminde gerçekleşmektedir.

Tendon iyileşme süreci uzadıkça, tendon iyileşme aralığında, saydam bölgeler ortaya çıkmaya başlar. Bunun nedeni ise, bu bölgede ve ona yakın olan intakt kollajen fibril segmentlerinin sindirilip açığa

çıkmasıdır. Açığa çıkan segmentler tekrar yeni oluşmuş kollajen fibrillere eklenir (geridönüşüm mekanizması), tıpkı embriyolojik tendon gelişiminde olduğu gibi. Bu sindirim işlemi, iyileşme aralığında ve ona yakın olan intakt kollajen liflerinde, güç kaybına yol açar. Bu nedenle tendon yaralanma sonrası cerrahi olarak tendon uçlarının tüm kenarlarını içerecek şekilde onarılması önerilmektedir ve genellikle tüm suture tekniklerindeki amaç, iyileşme aralığına yakın olan kollajen liflerin rüptüre olmasını engellemektir.

İn vivo tendon iyileşmenin, bir ayrıcalıklı yönü ise, aşamalı olarak gerim gücünü suturelerden yeni oluşmuş kollajen liflerine taşımasıdır. Bir çok çalışmada gösterildiği gibi, gerilme gücü sonucu kollajen liflerinin iyileşen tendonun uzun eksenine paralel şekilde dizilmesine neden olur (69,59). Buna ilave olarak fibroblastların proliferasyonu ve iyileşme bölgesine hücre göçü, aksiyel gerilme gücü ile artmaktadır ve fibroblastlar ile kollajen fibrilleri gerilme gücün yönüne paralel olarak oriyente olurlar (59). Gerilme güçleri, hücre oriyantasyonunu, kollajen üretimini ve kollajen liflerinin yeniden şekillendirilmesi etkilemektedir (29).

Sonuç olarak tendon iyileşmesi bir çok yönü ile tendonun embriyolojik gelişimine benzerlik göstermektedir ve İntrinsik tendon iyileşmesinin skarsız olması, ahenk içerisinde çalışan fibroblast hücreleri ile kollajen fibrillerinin bir ürünüdür.

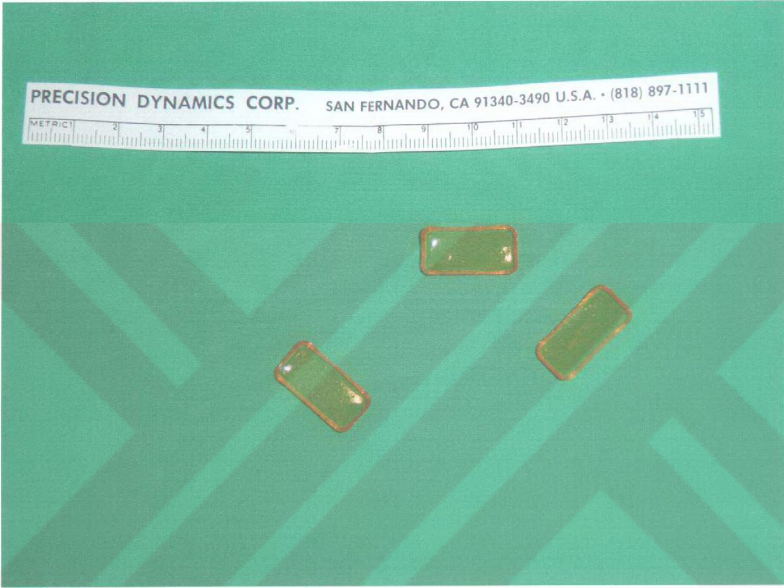


3.Gereç ve Yöntem:

Deney için 2-2.5 Kg ağırlığında 30 erişkin beyaz Leghorn tavuk Seçildi. Tüm hayvanların sağ alt ekstremiteleri kullanılarak 3. ve 4. parmaklara tendon tamiri yapıldı. Ayakların uzun parmağı (üçüncü parmak) biomekanik deney için, dördüncü parmağı ise histolojik değerlendirme için kullanıldı. Çalışma 17.04.2002 tarihinde Hacettepe Üniversitesi Hayvan etik kurulu tarafından verilen 2002/26-5 nolu izin ile yapıldı.

3.1. Jelatin filmlerin hazırlanışı:

H.Ü.Eczacılık Fakültesi Farmosötik biyoteknoloji bölümünce hazırlanan bioparçalanabilir jel filmlerine % 99 5 Florourasil (Sigma,Almanya) 10 mg, 20 mg, 30 mg dozlarda yüklendi. Jel filmleri 20 × 10 × 1 mm (boy, en ,kalınlık)ebatlarında uniform dikdörtgen filmler şeklinde yapıldı (şekil 12), ayrıca aynı ebatlarda ilaçsız jel filmleri de kontrol grubunda kullanılmak üzere hazırlandı. Jelatin filmlerin yapılış basamakları ayrıntı bir şekilde tablo (2,3) ve grafik (1) de gösterilmektedir.



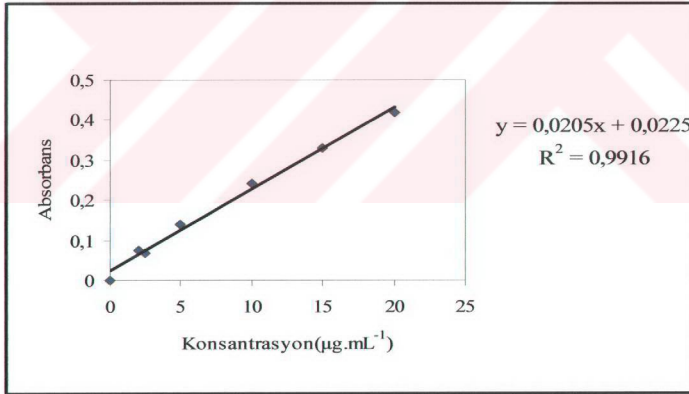
Şekil 12. Jelatin filmler 10x20x1 mm (en,boy,kalınlık) boyutlarında hazırlandı.

<u>Hazırlanan Formülasyonlar:</u> 1.Sade jelatin jel (10 adet) 2.Jelatin jel + 10 mg 5-FU (10 adet) 3.Jelatin jel + 20 mg 5-FU (10 adet) 4.Jelatin jel + 30 mg 5-FU (10 adet)	<u>Formülasyon Bileşimi:</u> Gliserin 6k Jelatin 2k Su 4k
2 g jelatin hassas terazide tartılır ve darası alınmış bir kapsüle alınır. 4 g su kapsülde bulunan jelatin üzerine ilave edilir, kapsülün ağzı saat camı ile kapatılır ve 30 dk bekletilir. - Bu sürenin sonunda 6 g (144 damla*) gliserin kapsüle ilave edilir. - Kapsüldeki karışım su banyosunun üzerinde eritilir. - Karışım homojen bir görünüm kazandıktan sonra su banyosunun üzerinde alınır ve her bir kalıba karışımından 700 µl konur. Soğumaya yakın, jel içinde homojen bir dağılım sağlayacak şekilde, mikropipet yardımıyla sırasıyla yukarıda belirtilen formülasyonlardan; 2. formülasyon için 200 µl, 3.formülasyon için 400 µl, 4. formülasyon için 600 µl 5-FU çözeltisi ilave edilir ve soğumaya bırakılır. - Jeller kalıplardan çıkarıldıktan sonra ışıktan korunarak saklanır. (*) Gliserinin 1 g'nın damla sayısı = 24	UV-Spektrofotometresi ile Miktar Tayini 5-FU'nun farklı konsantrasyondaki çözeltileri pH 7.4 PBS tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin absorbansları 265nm'de UV-spektrofotometresi ile belirlenmiştir. Konsantrasyona karşı absorbans değerleri verilerek standart doğru çizilmiştir. PBS: Fosfat tampon solüsyonu UV : Ultraviyole ışın

Tablo 2. Jelatin filmlerin hazırlanış etapları.

Konsantrasyon ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	$A_{\text{ort}} (n=3)$
20	0.420
15	0.331
10	0.242
5	0.138
2.5	0.068
2	0.073

Tablo 3. Çözeltilerin absorpsiyon miktarları



Grafik1.Konsantrasyona karşı absorbans değerlerin grafik eğrisi.

3.2.Deney grupları:

Tavuklar randomize olarak altı deney grubuna, her grup ta altı adet tavuk ayakları içerecek şekilde ayrıldı.

Birinci grup : rasgele seçilmiş cerrahi geçirmeyen sol ayaklardan oluşan kontrol grubu.

İkinci grup : tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan cerrahi kontrol grubu.

Üçüncü grup : tendon onarımı yapılan ve 5 Florourasil içermeyen jel ile sarılan kontrol grubu şeklinde idi.

Dördüncü grup : tendon onarımı yapılan ve 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubu.

Beşinci grup : tendon onarımı yapılan ve 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubu.

Altıncı grup : tendon onarımı yapılan ve 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubu olacak şekilde ayrıldı. Deney grupları ayrıntılı bir şekilde tablo 4 te gösterilmektedir.

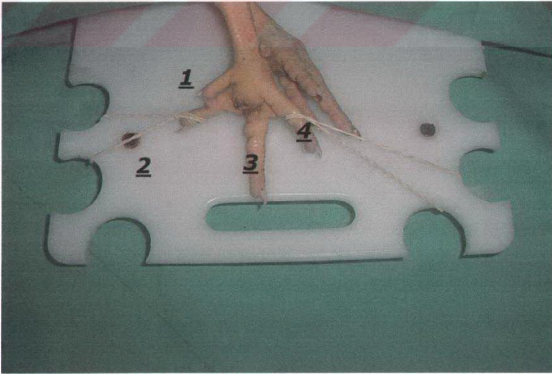
Deney Grupları	Grupların Özelliği
Grup I (N: 6)	Rasgele seçilmiş cerrahi geçirmeyen sol ayaklardan oluşan kontrol grubu
Grup II (N: 6)	Tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan cerrahi kontrol grubu
Grup III (N: 6)	Tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel ile sarılan kontrol grubu
Grup IV (N: 6)	Tendon onarımı yapılan ve 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup V (N: 6)	Tendon onarımı yapılan ve 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup VI (N: 6)	Tendon onarımı yapılan ve 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubu

Tablo 4. Deney Grupları

3.3.Cerrahi yöntem ve jelatin filmlerin yerleştirilmesi:

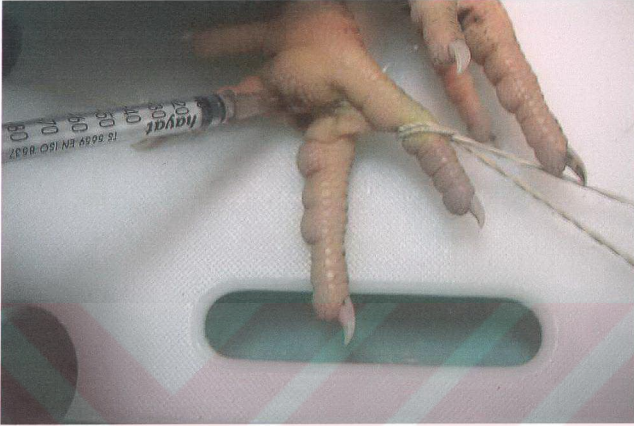
Tüm hayvanlara 30 mg/kg ketamin ve 1 mg/kg diazepam ajanları ile genel anestezi; cerrahi işlem yapılacak parmağa ise 1 cc % 2 prilokain (citanest, AstraZeneca) ile dijital blok yapıldı. Alt Ekstremitelere elastik bant ile turnike yapıp steril bir platform üzerine yerleştirdikten sonra aseptik şartlarda cerrahi işlem başlatıldı (Şekil 13,14). Cerrahi işlemde, standart olarak parmağın volar yüzünde proksimal ve distal dijital katlantıların arasında olacak şekilde 15 nolu bistüri ile insizyon yapıldı ve dikdörtgen şeklinde bir cilt flebi kaldırıldı (Şekil 15). Fleksör tendon kılıfına zarar verilmemesine dikkat edildi. Flep kaldırıldıktan sonra, fleksör kılıfı proksimal ve distal pulley sistemleri arasından yapılan bir insizyon ile açıldı ve fleksör digitorum profundus ortaya konuldu. Tendon moskito klemp yardımı ile retrakte edilerek kanaldan dışarı çıkarıldı. 11 nolu bistüri ile tek bir seferde tendona tam kat kesildi. Tendonlar 5.0 monofilament propilen atravmatik iğne

(Doğsan, Trabzon) dikişler ile modifiye Kessler yöntemi ile onarıldı. 6.0 monofilament propilen atravmatik iğne (Doğsan, Trabzon) dikişleri ile epitenon onarıldı (şekil 16). Hazırlanan jel filmleri tendonu çevreleyecek şekilde yerleştirilip (şekil 17), cilt flebi üzerine örtüldü. Cilt 5.0 monofilament propilen keskin iğne (Doğsan, Trabzon) dikişler ile sütüre edilip kapatıldı (şekil 18). Ayaklar povidine iodine ve serum fizyolojik ile pansuman yapıp steril gaz ile sarıldı. İnterfalangeal ve metakarpofalangeal eklemleri immobilize edecek şekilde alçıya alındı (şekil 18). Tavuklar tek bir kümeste bakılıp, protein değeri yüksek Broiler (Yemsan, Ankara) yem ile beslendi. yem günde üç kez olacak şekilde, 30 hayvanın tamamına günlük ortalama 8.1kg verildi. Hayvanlar cerrahiden üç hafta sonra yüksek doz pentobarbital enjeksiyonu ile sakrifiye edilip ayakları ampute edildi ve alçılar çıkarıldı.

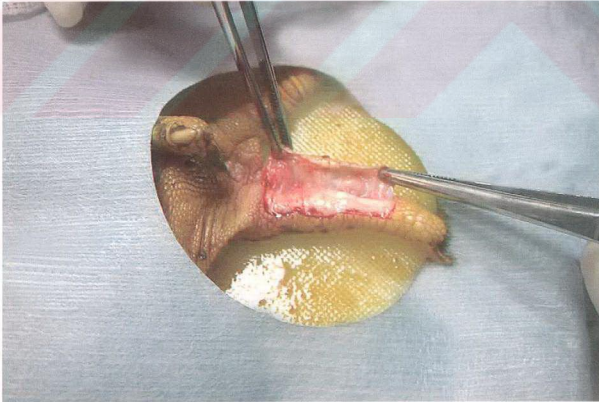


Şekil 13. Ayakların platforma tespiti.

1 : Birinci parmak, 2 : İkinci parmak, 3 : Üçüncü parmak, 4 : Dördüncü parmak



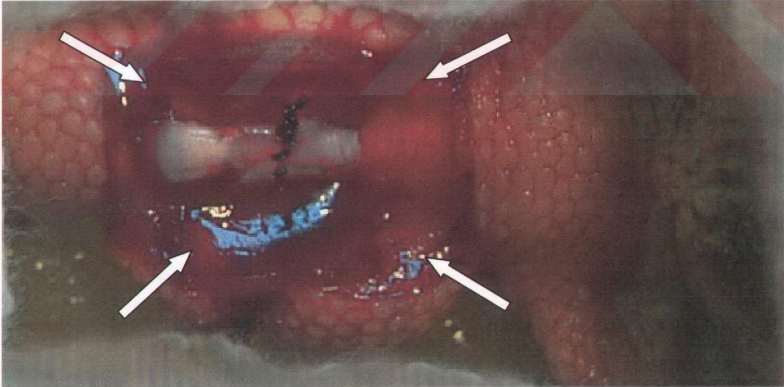
Şekil 14. Dijital bloğun yapılışı.



Şekil15. Volardan cilt flebinin kaldırılması.



Şekil 16. Modifiye Kessler yöntemi ile tendon onarımı.



Şekil 17. Tendon çevresine jelatin filmin yerleştirilmesi, Jelatin filmi beyaz oklar ile işaretli .



Şekil 18. Cilt flebinin kapatılması



Şekil 19. Ekstremitenin alçıya alınması.

3.4.Histolojik inceleme :

Histolojik örnekler hayvanın ölümünden hemen sonra hazırlandı. Dördüncü parmağın cildini kaldırdıktan sonra, tendon, tendon kılıfı ve üzerindeki yumuşak doku en blok olarak onarım yerinden kemiğe ulaşacak şekilde kesilip 5 mm lik spesimenler hazırlandı. Örnekler %10' luk formalin'e konulup H.Ü. Patoloji bölümüne histolojik değerlendirme için gönderildi. Aynı şekilde her gruptan bir örnek ayrılıp % 20'lik gluteraldehid içine konuldu ve elektron mikroskopi için HÜ Anatomi bölümüne gönderildi. Patoloji bölümünde hazırlanan kesitler hematoksilin-eosin ile boyanıp ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Örnekler karıştırılarak tek bir patolog tarafından değerlendirildi. Değerlendirmede Tang ve arkadaşları (70,71) tarafından geliştirilen tendon adezyon derecelendirme sistemi kullanıldı (tablo 5). Tüm grupların adezyon skorlama bulguları değerlendirilip kaydedildi (tablo 6).

Grade 1	(Hafif) :	Sinovyal aralık geniş alanda açık . Fokal alanda sinovyal hiperplazi ve hafif fibrozis.
Grade 2	(Orta) :	Sinovyal aralık çoğunlukla açık. Sinovyal hiperplazi ve fibrozis daha belirgin. Çevre dokuya fokal yapışıklık.
Grade 3	(Şiddetli):	Sinovyal aralık geniş alanlarda/ tamamen kapalı. Fibrozis belirgin.

Tablo 5. Tendon Adezyon Skorlaması

Gruplar(N=6)	Grup2	Grup3	Grup4	Grup5	Grup 6
N1	Grade 2	Grade 3	Grade 1	Grade 2	Grade 3
N2	Grade 3	Grade 3	Grade 2	Grade 2	Grade 3
N3	Grade 3	Grade 3	Grade 1	Grade 2	Grade 3
N4	Grade 3	Grade 3	Grade 1	Grade 1	Grade 3
N5	Grade 2	Grade 2	Grade 1	Grade 1	Grade 2
N6	Grade 3	Grade 2	Grade 1	Grade 2	Grade 3

Grup 2 : Tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol grubu
Grup 3 : Tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel ile sarılan kontrol grubu
Grup 4 : Tendon onarımı yapılan ve 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 5 : Tendon onarımı yapılan ve 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 6 : Tendon onarımı yapılan ve 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubu

Tablo 6.Gruplardaki Tendon Adezyon Skorlaması

3.5.Elektron mikroskopik inceleme :

Elektron mikroskopik inceleme için, ince 60 nm lik kesitler mesh grid üzerine yerleştirilip, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı. Elektron mikroskopi değerlendirmesinde tendon yapısı, kollajen yanıtı, fibroblast hücre aktivitesi, kollajenin oriyantasyonu incelendi.

3.6.Biomekanik angüler rotasyon testi :

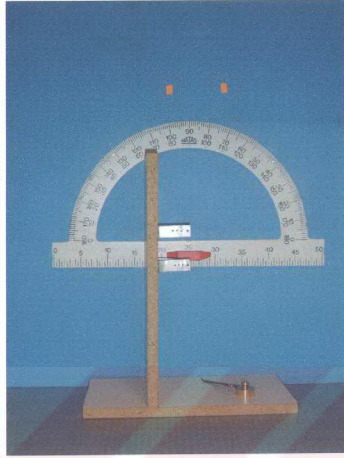
Tüm bacakların üçüncü parmakları korunarak taze olarak %9 luk NaCl içeren plastik ambalajların içerisine konulup biomekanik angüler rotasyon testi için hazırlandı. Angüler rotasyon testi, özel olarak tasarlanan ve hazırlanan bir düzenek ile yapıldı (Şekil 20,21). Düzenek ebatları 5 x 40 x 80 cm ile 5 x 40x 90 cm olan iki adet suntadan oluşan platform üzerine kuruldu. Düzenekte taze bacak vertikal olarak iki mafsaldan Kirschner telleri ile tespit edildi. Birinci tespit metakarpattan geçecek şekilde yapılırken, ikinci tespit orta falanksın ortasından yapıldı. Bu tespit şekli DIP eklemin serbest hareketini sağladı. Distal falankstan intramedüller olarak 20cm

boyunda ince bir Kirchner teli geçirildi ve hareket göstergesi olarak kullanıldı. Platformun tepesine hareket açısını değerlendirmek için bir gönye yerleştirildi. Proksimalden profundus tendonu 18 gr'lık moskito klemp ile yakalandı ve klembin bacağına 100 gr'lık bir ağırlık 8 gr ağırlığındaki bir tel ile asıldı. Tüm bacaklara aynı ağırlık uygulandı. Ağırlığın (100+18+8) aksiyel kuvvet değeri ise yaklaşık 1.2 newton olarak hesaplandı. Ağırlığı uyguladıktan 15 saniye sonra, gösterge statik hale geldiğinde açı değerleri gönyeden tespit edilerek hesaplandı ve kaydedildi. Tüm grupların DIP eklem hareketlerinin açısal değerleri hesaplandı ve veriler kaydedildi (tablo 7).

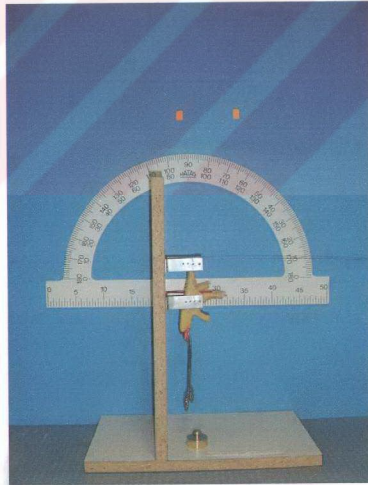
Gruplar(N=6)	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
N1	83°	37°	41°	72°	55°	15°
N2	82°	36°	43°	78°	61°	21°
N3	79°	40°	39°	76°	69°	23°
N4	77°	42°	38°	81°	62°	21°
N5	81°	39°	42°	75°	59°	18°
N6	83°	43°	37°	76°	62°	20°
<i>Ortalama değerler</i>	$\bar{L}=80.8^\circ$	$\bar{L}=39.5^\circ$	$\bar{L}=40^\circ$	$\bar{L}=76.3^\circ$	$\bar{L}=61.3^\circ$	$\bar{L}=19.6^\circ$
<i>Standard sapmalar</i>	SS=2.3	SS=2.37	SS=2.3	SS=3.01	SS=4.5	SS=2.8

Grup 1 : Rasgele seçilmiş cerrahi geçirmeyen sol ayaklardan oluşan kontrol grubu
Grup 2 : Tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol grubu
Grup 3 : Tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel ile sarılan kontrol grubu
Grup 4 : Tendon onarımı yapılan ve 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 5 : Tendon onarımı yapılan ve 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 6 : Tendon onarımı yapılan ve 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubu

Tablo7.Tüm gruplarda ölçülen angüler rotasyon testinin açı (derece), ($\bar{L}$) ortalama ve (SS)Standard sapma değerleri.



Şekil 20. Angüler rotasyonu ölçmek için kullanılan düzenek.



Şekil 21. Tavuk ayağının düzenek üzerine yerleştirilmesi ve angüler rotasyon açısı değerinin ölçümü.

3.7.İstatistiksel Analiz:

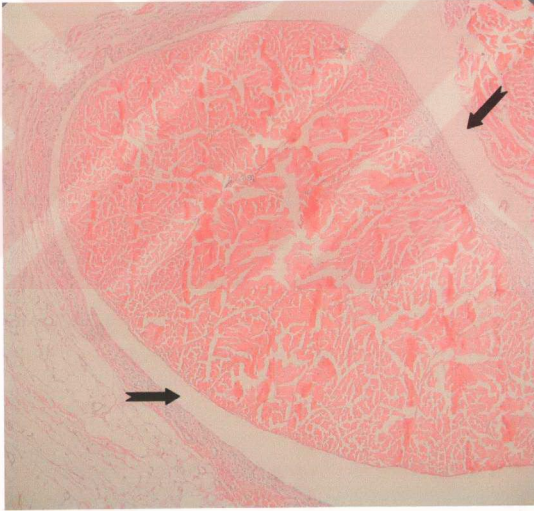
Deney sonuçları H.Ü. Biostatistik bölümünce değerlendirilip Angüler rotasyon testi ile elde edilen derece cinsinden açış değerleri, farklılık yaratan grup varlığı açısından **Kruskal Wallis** varyans analizi ile değerlendirildi. Farklılık yaratan grup varlığı saptandıktan sonra tek tek gruplararası karşılaştırmalar **Mann Whitney U** testi kullanılarak yapıldı. Patolojik skorlama ile elde edilen skor değerleri açısından gruplar arası karşılaştırmalar ise ki kare testi kullanılarak yapıldı . $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5.Bulgular:

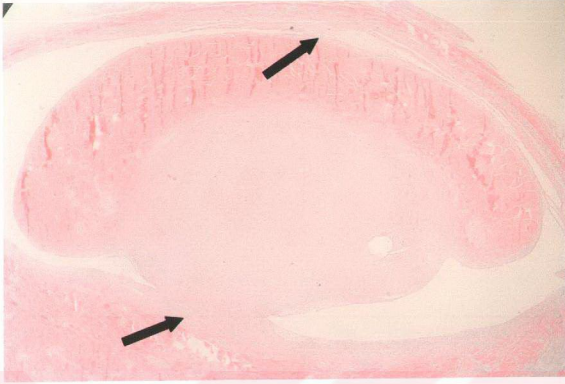
5.1.Işık mikroskopi bulguları:

Histolojik incelemede, elde edilen ışık mikroskopik görüntülerde, 10 mg'lık 5 Florourasilli jel grubunda (Grup 4) homojen bir şekilde geniş alanda sinovyal aralık açığı enflamasyon ve fibrozis bulguları diğer gruplar ile oranla hafif derecede idi (Şekil 22). 20 mg'lık 5 Florourasilli jel grubunda (Grup 5) enflamasyon ve fibrozis orta derecede idi (Şekil23). 30 mg'lık 5 Florourasilli jel grubu (Grup 6) ise 20 ve 10mg'lık 5 Florourasilli jel grupları (Grup 4,5) ile karşılaştırıldığında sinovyal aralık geniş alanlarda tamamen kapalı ve fibrozis belirgin idi(şekil 24). Skor değerleri açısından gruplar arası karşılaştırmalar ise **ki kare** testi kullanılarak yapıldı ve P değerleri tablo şeklinde kaydedildi (tablo 6). 10 mg'lık 5 Florourasilli jel grubu (Grup4) ile tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan grubu (Grup2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterildi ($p = 0.009$).

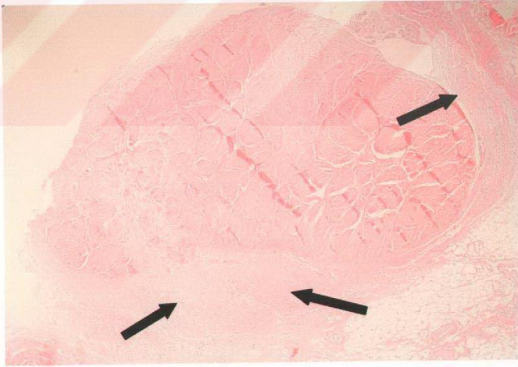
30 mg/lık 5 Florourasilli jel grubu (Grup 6) ile tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol grubu (Grup2) karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilemedi ($p = 0.505$). Bu bulgular *grafik 2* ile ifade edilmektedir. Grafide 4.deney grubun en düşük ortalama patolojik skor değerlerine sahip olduğunu görmekteyiz.



Şekil 22. 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubundan (Grup 4), üç hafta sonrası tendon onarım bölgesinden alınan kesit. Oklar hafif fibrozis ve geniş alanda açık olan sinovyal aralığı göstermektedir (X 10 büyütme).



Şekil 23. 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubundan (Grup 5), üç hafta sonrası tendon onarım bölgesinden alınan kesit. Oklar, kılıftan köken alan kollajen lifler ile oblitere olan sinovyal aralıkları işaret etmektedir (X 10 büyütme).

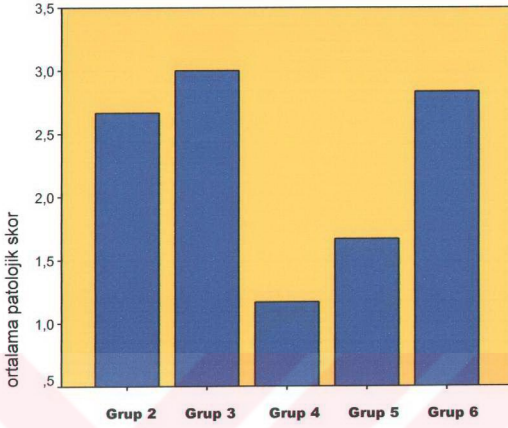


Şekil 24. 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubundan (Grup 6), üç hafta sonrası tendon onarım bölgesinden alınan kesit. Oklar, belirgin olan fibrozisi ve tam olarak kapalı olan sinovyal aralığı göstermektedir. (X 10 büyütme).

Ki-kare P <0.05 Skorlama	P		P
Grup 2 x Grup 3	0.121	Grup 3 x Grup4	0.002
Grup 2 x Grup 4	0.009	Grup 3 x Grup 4	0.296
Grup 2 x Grup 4	0.036	Grup 4 x Grup 5	0.079
Grup 2 x Grup 4	0.505	Grup 4 x Grup 6	0.007
Grup 3 x Grup 4	0.002	Grup 5 x Grup 6	0.012

Grup 2: Tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol grubu
 Grup 3: Tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel ile sarılan kontrol grubu
 Grup 4: Tendon onarımı yapılan ve 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
 Grup 5: Tendon onarımı yapılan ve 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
 Grup 6: Tendon onarımı yapılan ve 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubu

Tablo8. **Ki kare** testi ile elde edilen **P** değerleri.

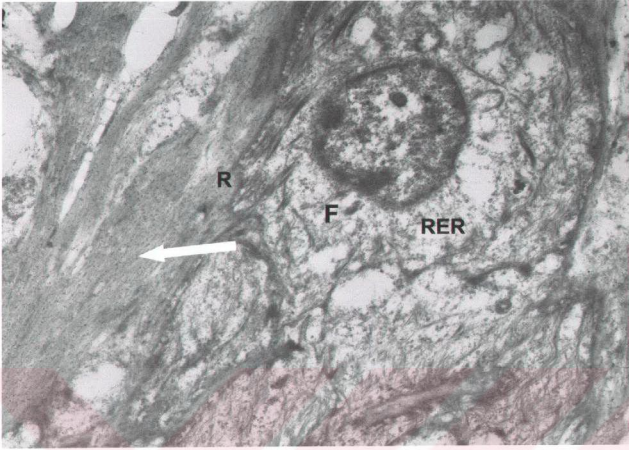


Grup 2: Tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol grubu
Grup 3: Tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel ile sarılan kontrol grubu
Grup 4: Tendon onarımı yapılan ve 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 5: Tendon onarımı yapılan ve 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 6: Tendon onarımı yapılan ve 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubu

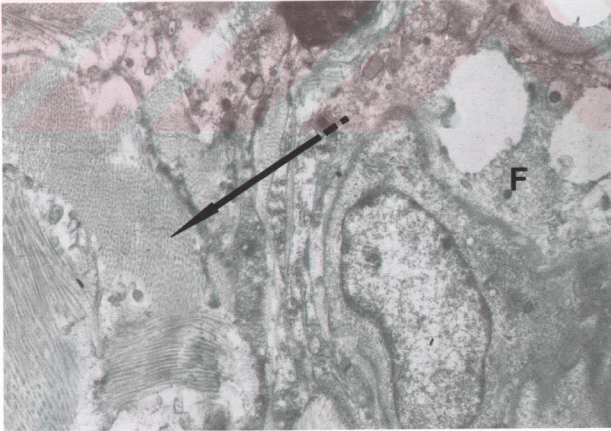
Grafik 2.Ortalama patolojik skora göre deney gruplarının dağılımı.

5.2.Elektron Mikroskopi bulguları:

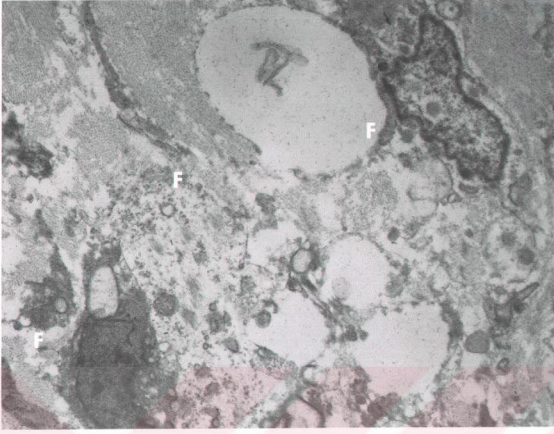
Elektron Mikroskopi incelemelerinde, 10 mg'lık 5 Florourasilli jel grubunda (Grup 4) (Şekil 25) aktif fibroblast hücresi ve bu fibroblast hücresinin girintilerinde yeni oluşan kollajen fibrilleri (solda, beyaz okla işaretli) aynı yönde oldukları izlenmektedir. Tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan grupta (Grup 2) (Şekil 24) kollajen liflerinin dağınık (siyah okla işaretli) ve değişik yönlere doğru oluştuğunu görmekteyiz. 30 mg'lık 5 Florourasilli jel grubunda (Grup 6) ise (Şekil 25) aynı büyütmede birden fazla aktif fibroblast hücresi ve yer yer dağılmış düzensiz şekilde yerleşen kollajen liflerini görmekteyiz,bu da fibrosiz ve enflamasyonun geliştiğini göstermektedir.



Şekil 24. 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubunun (Grup 4) elektron mikroskopi görüntüsü. F, aktif fibroblast hücresi ; GER, Granüllü endoplazmik retikulum; R, fibroblast hücresinin girintileri ; Beyaz ok ,kollajen lifleri (X 5000 büyütme).



Şekil 25. Cerrahi kontrol grubunun (Grup 2) elektron mikroskopi görüntüsü. Dağınık kollajen lifleri okla işaretli . F, fibroblast (X 5000 büyütme).



Şekil 26. 30 mg 5 Florourasil içeren grubun (Grup 6) elektron mikroskopi görüntüsü F, Fibroblast hücresi (5000 X büyütme).

5.3.Biomekanik angüler rotasyon testin bulguları:

Biomekanik angüler rotasyon testinde, 10 mg'lık 5 Florourasilli jel grubtaki (Grup 4) ortalama aç ı değ erleri ($\bar{U} = 76.3^{\circ}$ $SS=3.01$) cerrahi geç irmeyen grubun (Grup 1) aç ı değ erlerine yaklaşmaktaydı ($\bar{U} = 80.8^{\circ}$ $SS=2.3$). 30 mg'lık 5 Florourasilli jel grup (Grup 6), diğ er gruplarla karşılaştırıldığında en dűřűk ortalama aç ı değ erlerine sahipti ($\bar{U} = 19.6^{\circ}$ $SS=2.8$) (tablo 7). 10 mg'lık 5 Florourasilli jel grubun (Grup 4) aç ı değ erleri cerrahi geç irmeyen grup (Grup 1) ile karşılaştırıldığında P değ eri ($p = 0.015$, $p < 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı fark gűsterse de, diğ er grupların sonuçları ile karşılaştırıldığında bu farkının az olduğunu gűrűyoruz. Tűm grupların karşılaştırmalı P değ erleri tablo 8'de gűsterilmektedir. Grafik 3 ise, grup dűrdűn ortalama aç ı değ erlerinin grup bir aç ı değ erlerine yaklaştığını ifade etmektedir.

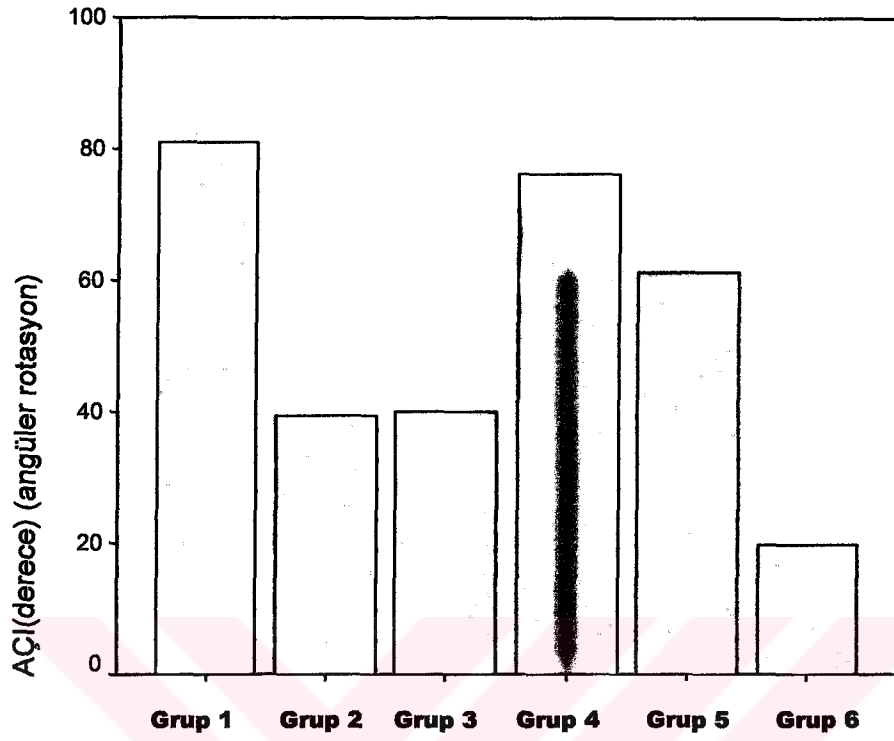
Tűm inceleme yűntemlerini değ erlendirdiğimizde, 5 Florourasilin 10 mg'lık uygulamalarında tendon yapışıklığının belirgin dűzeyde azaldığını, ancak yűksek doz uygulamalarda (30 mg 5 Florourasil) fibrozis ve enflamasyonun artmasına bağlı yapışıklığın artığını saptadık.

Angüler Rotasyon Testi $p < 0.05$

	p		p		p
Grup 1 X Grup 2	0.002	Grup 2 X Grup 4	0.002	Grup 4 X Grup 5	0.002
Grup 1 X Grup 3	0.002	Grup 2 X Grup 4	0.002	Grup 4 X Grup 6	0.002
Grup 1 X Grup 4	0.015	Grup 2 X Grup 6	0.002	Grup 5 X Grup 6	0.002
Grup 1 X Grup 5	0.002	Grup 3 X Grup 4	0.002		
Grup 1 X Grup 6	0.818	Grup 3 X Grup 5	0.002		
Grup 2 X Grup 3		Grup 3 X Grup 6	0.002		

Grup 1 : Rasgele seçilmiş cerrahi geçirmeyen sol ayaklardan oluşan kontrol grubu
Grup 2 : Tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol grubu
Grup 3 : Tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel ile sarılan kontrol grubu
Grup 4 : Tendon onarımı yapılan ve 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 5 : Tendon onarımı yapılan ve 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 6 : Tendon onarımı yapılan ve 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubu

Tablo 9. **Mann Whitney U** testin ile elde edilen **P** değerleri.



- Grup 1 :** Rasgele seçilmiş cerrahi geçirmeyen sol ayaklardan oluşan kontrol grubu
Grup 2 : Tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol grubu
Grup 3 : Tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel ile sarılan kontrol grubu
Grup 4 : 10 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 5 : 20 mg 5 Florourasil içeren jel grubu
Grup 6 : 30 mg 5 Florourasil içeren jel grubu

Grafik 3.Angüler rotasyon açı değerlerine göre deney grupların dağılımı

6.Tartışma:

Fleksör tendon cerrahisindeki teknik gelişmeler ve postoperatif rehabilitasyonun yaygınlaşmasına rağmen, günümüzde adezyonlar önemli bir komplikasyon olarak karşımıza çıkmaktadır. Kapsamlı seri çalışmalar sonucu tendon yaralanmasını takiben kılıf bütünlüğünün bozulmasının onarılan tendonla etraf doku arasında yapışıklıkların gelişmesinde önemli rol oynadığı gözlenmiştir (R11,12,25 O=22).

Khan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada (73), tendon iyileşmesinde fibro-osseoz fibroblast hücrelerinin öneminden söz etmişlerdir. Endotenon fibroblastlara göre fibro-osseoz fibroblastlar büyüme faktörlerine daha reaktif bir yanıt vermekte, ayrıca bu hücreler tarafından üretilen kollajen lifleri düzensiz olup sinovyal boşluğu doldurmakta ve sonuç olarak fibrozis ile yapışıklığa neden olmaktadır (73,59). Günümüzde, tendonların intrinsik bir mekanizma ile de iyileşebildiği bilinmektedir (2). Lundberg ve arkadaşları intrinsik mekanizma ile tendonlarının adezyonsuz iyileşebileceğini göstermişlerdir (2). Fibro-osseoz fibroblastların ortamdan uzaklaştırılması ile intrinsik iyileşme baskın olabileceğinden, tüm yeni çalışmalar bu temele yönelik yapılmaktadır (4,5,74-76).

Bu çalışmada tavuk modelinin seçilmesinin nedeni, bir çok yönü ile tavuk fleksör tendon anatomisinin insan fleksör tendon anatomisine benzemesidir (23,25). Ayrıca literatürde tavuk modelinin tendon iyileşmesi ve adezyonlarının araştırılmasında uygun bir hayvan modeli olduğu belirtilmiştir (17,18,23,25). Diğer laboratuvar hayvanları ile karşılaştırıldığında ucuz olması ve bakımının kolay sağlanması seçimimizi etkileyen diğer faktörlerdir.

Çeşitli araştırmalar, fibro-osseöz fibroblastlar üzerinde 5 Florourasilin etkili olduğunu ve fibroblast proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir (16,17,18). Ayrıca 5 Florourasil'in glokom filtrasyon cerrahisinde fokal skar oluşmasını önlediği de gösterilmiştir (77-79). 5 Florourasil bir pirimidin analogudur ve hücre içerisine girdikten sonra RNA ve DNA metabolilerine dönüşür. Oluşan major iki metaboliti 5 florourasil-2-deoksiuridin 5 fosfat ve 5-florouridin trifosfattır. 5-floro-2-deoksiuridin 5 fosfat timidin sentetaz enzimine bağlanır ve DNA sentezini inhibe eder, öte yandan 5-florouridin trifosfat RNA'nın içine girerek fonksiyonunu engeller. Bu etkiler daha çok hızlı bölünen hücreler üzerinde gerçekleşir ve bu nedenle de 5 Florourasil antineoplastik bir ilaç olarak kullanılmaktadır.

Florourasilin topikal uygulamalarında sadece %6 oranında sistemik emilim olur ve karaciğerde üre, karbondioksit ve α -floro- β -alanin metabolitlerine dönüşerek idrar ile atılır (80). Fibroblastların kontraksiyonunu ve proliferasyonunu inhibe eden 5-Florourasilin gerçek mekanizması henüz açıklığa kavuşmamıştır, ancak yapılan bir çalışmada bu etkinin f-aktin kontraksiyonu veya serum kemokinezis üzerinden olmadığı ortaya konulmuştur (16,81).

Daha önceki tendon adezyon çalışmalarında 5-Florourasil tek bir uygulamada sünger ile tendona sürelererek yapılmıştır (17, 18). Ancak, tendon iyileşmesindeki uzun süren inflamatuvar ve onarım fazları göz önünde bulundurulduğunda (58), tek bir uygulamanın tam olarak etkin olabilmesi şüphelidir. Aynı şekilde sürüntü şeklinde uygulandığında tendon onarım bölgesindeki tüm tendon yüzeylerinde adezyonların homojen bir şekilde engellenemediği gösterilmiştir (18). Deneyde kullandığımız "Jelatin" maddesi iki şekilde üretilmektedir. Gıda sanayinde 1943 ten beri hayvan kaynaklı türevi kullanılmaktayken (82) son yıllarda sentetik formu ilaç sanayi ve insan uygulamaları için üretilmektedir (83). Hayvan formu protein polimerden oluşurken, sentetik formu % 25 amiloz ve % 75 amilopektin polimerlerinden oluşmaktadır (84). Bu sentetik polimer su ile karıştırıldığında jel kıvamında bir form elde edilmektedir (84).

5 Florourasilin jelatin sistemi ile uygulanması bu gibi sorunların giderilmesi açısından uygun bir çözüm olabileceği düşünüldü. Deney sırasında hazırlanan sistemin % 9 NaCl solüsyonunda ve 37°C sıcaklıkta in-vitro olarak 12 günde eridiğini gözlemledik. Bu şekilde jelatin sistemi 5 Florourasilin yavaş salınımını sağlayarak uzun süren inflamatuvar faz üzerinde daha etkili olabilmektedir (22). Aynı zamanda jelatin filminin tendonu çepe çevre sararak, 5 Florourasil uygulamasının daha homojen ve geniş bir alanda etkili kılacağı düşünülmüştür.

Deneyde yavaş salınım sistemi ile 5 Florourasilin 10 mg'lık dozlarda daha etkili olabileceği histolojik ve biyomekanik deney sonuçları ile gösterildi. Cerrahi işlemde, jelatin yapısının yumuşak kıvamda olması ve kolay şekil alması teknik açıdan tendonun eşit şekilde sarılmasına avantaj sağlamaktaydı. Buna paralel olarak jelatin sisteminin klinik uygulamalarda aynı avantajları sağlayabileceği düşünüldü. Tendon onarımı yapılan ve 10 mg 5 Florourasil jel içeren grubun (Grup 4) histolojik incelemelerindeki sinovyal aralığın tüm yüzeylerde eşit şekilde açık olması bu hipotezi desteklemekteydi.

Tüm hayvanlar sakrifiye edildikten sonra, ayak örnekleri gros olarak incelendi. Cerrahi geçiren parmaklarda enfeksiyon bulguları saptanmadı. Bu bulgular steril şartlarda cerrahi ve uygun yöntemler ile pansuman yapıldığında enfeksiyonun önemli bir sorun olmayacağını gösterdi.

Histolojik incelemede, Tang ve arkadaşlarının (70, 71) geliştirdiği patolojik skorlama yöntemi kullanıldı. Bu yöntem ile sübjektif olan histolojik bulgular daha objektif hale getirildi. Tendon onarımı yapılan ve 10 mg'lık 5 Florourasilli jel uygulanan grupta (Grup 4) en düşük grade skorlaması saptanırken (Sinovyal aralık geniş alanlarda açık ve fibrosiz minimal); tendon onarımı yapılan ve 30 mg'lık 5 Florourasilli jel uygulanan grup (Grup 6), tendon onarımı yapılan ama jel uygulanmayan grup (Grup 2) ile tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel uygulanan grupta (Grup 3) grade skorlaması yüksek idi. Tendon onarımı yapılan ve 30 mg'lık 5 Florourasilli jel içeren grupta (Grup 6) sinovyal aralık kapalı ve fibrozis artışı izlendi. Tendon onarımı yapılan ve 20 mg'lık 5 Florourasilli jel uygulanan grupta (Grup 5) ise ortalama bir grade skorlama sonucu elde edilmişti. Deney bulguları yavaş salınım sistemi ile 10 mg'lık 5 Florourasilli dozunun tendon yapışıklığının önlenmesinde etkili olduğunu, ancak yüksek doz uygulamalarında beklenilenin aksine fibrozisi arttırdığını gösterdi.

Bu bulgular 5 Florourasil ile yapılan diğer çalışmalara paralellik göstermektedir (17,18). İstatistiksel değerlendirmelere göre (Grafik 2,3), tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jel uygulanan (Grup 3) grubun tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol (Grup 2) grubu ile adezyon oluşumu açısından benzerlik göstermektedir. Bu da ilaçsız jel uygulamasının tendon adezyon oluşumunun engellemesinde etkisi olmadığını göstermektedir.

Elektron mikroskopi görüntüsünde ise, tendon onarımı yapılan ve 10 mg'lık 5 Florourasilli jel uygulanan grupta (Grup 4) aktif Fibroblast hücreleri ve oriyente kollajen lifleri gösterildi. Bu bulgular aktif iyileşmeyi ve homojen kollajen oluşumunu göstermektedir. Tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan kontrol grubunda (Grup 1), aktif fibroblastların yanı sıra değişik düzlemlerde oryantasyon gösteren kollajen fibrilleri vardı. Bu bulgular aktif ancak düzensiz iyileşmeyi göstermektedir. Tendon onarımı yapılan ve 30 mg'lık 5 Florourasilli jel uygulanan grupta ise aynı büyütme kesitinde birden fazla aktif fibroblast ve fibrosit hücreleri ile dağınık kollajen lifleri görüldü. Birden fazla fibroblast hücrelerinin olması enflamasyon lehine değerlendirilebilir, bu da 5 Florourasilin yüksek doz uygulamalarında enflamasyon ile fibrozise yol açabileceğini

göstermektedir. Bu bulgular aynı şekilde diğer 5 Florourasil kullanılarak yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (17,18).

Literatürü incelediğimizde, tendon ekskürsiyonu temel olarak iki yöntem ile değerlendirilmektedir (85,86,87). Bunlar angüler rotasyon testi ile dijital algılama ile fleksiyon direncinin ölçme testidir. Dijital algılama testinin sensitivitesinin yüksek olması angüler rotasyon testine üstünlük sağlamasına neden olmaktadır. Ancak sistemin kurulmasının komplike olması ve gereçlerinin zor bulunması dezavantaj olarak kabul edilmektedir. Bu deneyde uygulanabilirliği kolay olan angüler rotasyon testini kullandık.

Yapılan biomekanik testlerde en iyi sonuçları tendon onarımı yapılan ve 10 mg'lık 5 Florourasilli jel uygulanan grupta (Grup 4) görüyoruz, bu da 5 Florourasilin düşük ve yavaş salınımlı jelatin sistemi ile cerrahi ve immobilizasyona rağmen tendon ekskürsiyonunu olumlu yönde koruduğunu göstermektedir. Yüksek doz uygulamaları ise tendon onarımı yapılan ve 30 mg'lık 5 Florourasilli jel uygulanan grupta (Grup 6) tendon ekskürsiyonunun kötü olduğunu bununla beraber yapışıklığın arttığını göstermektedir. Bu bulgular, yüksek doz uygulamalarının enflamasyon ve fibrozise yol açabildiğini ve sonuç olarak tendonun skarla iyileşmesine neden olduğunu göstermiştir.

Tendon onarımı yapılan ve ilaç içermeyen jelden uygulanan grupla (Grup 2), tendon onarımı yapılan ve jel uygulanmayan grup (Grup 3) arasında benzer fibrozis sonuçları elde edildi. Bu da jelin tek başına tendon ekskürsiyonunda olumlu yönde etki etmediğini göstermektedir. Son olarak tendon onarımı yapılan ve 20 mg'lık 5 Florourasilli jel uygulanan (Grup 5) grubun tendon ekskürsiyonunu iyi yönde yeterli derecede etkilemediğini görmekteyiz. Bu bulgular, diğer tendon adezyon çalışmaları ile benzerlik göstermektedir (17,18,88).



7.Sonuç:

Bu çalışmada, 5 Florourasilin farklı bir uygulama yöntemi ile fleksör tendon iyileşmesi üzerinde etkilerinin araştırılması amaçlandı. Elde ettiğimiz bulgular, yavaş salınım sistemi ile 10 mg'lık 5 Florourasil dozunun, tendon yapışıklıklarını engellediğini gösterdi. Jelatin salınım sisteminin bir avantajı 5 Florourasilin uzun bir zaman dilimi içerisinde ortamda bırakılması ile tendon iyileşmesinde enflamatuvar faza daha etkili olunabilmesidir.

Diğer bir avantaj ise film şeklinde olması ile tendonun tüm çevresinin homojen bir şekilde sarılabilmesini sağlar ve böylece uygulamanın etkinliğinin artmasına neden olur. 5 Florourasil bu uygulama sistemi ile, postoperatif adezyonların engellenmesinde ucuz ve kolay uygulanabilir bir tedavi seçeneği olabilir. Ayrıca postoperatif aktif ve pasif rehabilitasyon protokolleri bu tedaviye göre modifiye edilebilir. Bu çalışmaya ek olarak, değişik dozlarda 5 Florourasilin yavaş salınım sisteminin insan modelinde etkinliği ve klinik uygulanabilirliğinin araştırılması gerekir.

8.Kaynaklar:

1. Peacock EE Jr.Some biologic and technical considerations in the repair of long tendons.Orthop. Clin.North. Am.1977 Apr;8(2): 449-72.
2. Lundborg G. Experimental flexor tendon healing without adhesion formation . A new concept of tendon nutrition and intrinsic healing mechanisms.A preliminary report.Hand.1976 Oct;8(3):235-8
3. Schneider, L. H. Flexor tendons: Late reconstruction. In D. Green, R. Hotchkiss, and W. Pederson (Eds.),*Green's Operative Hand Surgery*, 4th Ed. New York: Churchill Livingstone, 1999. Pp. 1898–1949.
4. Gelberman, R. H., Manske, P. R., Vande Berg, J. S., Lesker,P. A., and Akeson, W. H. Flexor tendon repair in vitro:A comparative histologic study of the rabbit, chicken, dog, and monkey. *J. Orthop. Res.* 2: 39, 1984.
5. Gelbermen RH, Vande Berg JS, Lundborg GN, Akeson WH. Flexor tendon healing and restoration of the gliding surface. An ultrastructural study in dogs.J Bone Joint Surg. Am.1983 Jan;65(1):70-80
6. Manske PR,Lasker PA.Histologic evidence of intrinsic flexor tendon repair in various experimental animals.An in vitro study.Clin Orthop.1984 Jan-Feb;(182):297-304.
7. Matthews P.The fate of isolated segments of flexor tendons within the digital sheath-a study in synovial nutrition.Br J Plast Surg.1976 Jul;29(3):216-24.
8. Strickland JW. Flexor tendon injuries: I. Foundations of treatment. J Am Acad Orthop Surg 1995;3:44 –54.
9. Herzog M, Lindsay WK, McCain WG. Effects of betaaminiopropionitrile on adhesions following digital flexor tendon repair in chickens. Surg Forum 1970;21:509 – 511.

10. Kapetanos G. The effect of the local corticosteroids on the healing and biomechanical properties of the partially injured tendon. *Clin Orthop* 1982;163:170 –179.
11. Kulick MI, Smith S, Hadler K. Oral ibuprofen: evaluation of its effect on peritendinous adhesions and the breaking strength of a tenorrhaphy. *J Hand Surg* 1986;11A:110 –120.
12. Szabo RM, Younger E. Effects of indomethacin on adhesion formation after repair of zone II tendon lacerations in the rabbit. *J Hand Surg* 1990;15A:480–483.
13. Blumenkranz MS, Claflin A, Hajek AS. Selection of therapeutic agents for intraocular proliferative disease: cell culture evaluation. *Arch Ophthalmol* 1984;102:598–604.
14. Blumenkranz MS, Ophir A, Claflin AJ, Hajek A. Fluorouracil for the treatment of massive periretinal proliferation. *Am J Ophthalmol* 1982;94:458–467.
15. Fitzpatrick RE. Treatment of inflamed hypertrophic scars using intralesional 5-FU *Dermatol Surg*.1999. Mar;25(3):224-32.
16. Khan, U. B.Sc., M.B.B.S., F.R.C.S.; Occleston, N. L. B.Sc., M.Phil.; Khaw, P. T. Ph.D., M.R.C.P., F.R.C.S., F.R.C.; McGrouther, D. A. F.R.C.S., M.D. Single Exposures to 5- Fluorouracil: A Possible Mode of Targeted Therapy to Reduce Contractile Scarring in the Injured Tendon. *Plast. Reconstr. Surg*.1997 Feb; 99(2):465-471.
17. Akali A, Khan U, Khaw P et al. Decrease in adhesion formation by a single application of 5-Fluorouracil following Flexor tendon injury. *Plast. Reconstr. Surg* . 1999 Jun .103: 151-158.
18. Moran SL, Ryan CK, Orlando GS et al. Effects of 5-Fluorouracil on Flexor tendon repair. *J. Hand Surg.*, 2000 .25A: 242-251.
19. Kleinert, H. E., Spokevivijs, S., and Papas, N. H. History of flexor tendon repair. *J. Hand Surg.*, 1995,20A:S46.
20. Kleinert, H. E. Primary repair of flexor tendons in “no man’s land.” *J. Bone Joint Surg*. 1967,49A:577.
21. Lundberg, G., et al. The role of synovial fluid and tendon sheath for

- flexor tendon nutrition. *Scand. J. Plast. Surg.* 1980, 14:99.
22. Manske, P. R. Flexor tendon healing. *J. Hand Surg.* 1988,13B:237.
 23. Strickland, J. W., Schneider, L. H., and McCarroll, H. R. Tendons. In P. R. Manske (ed.), *Hand Surgery Update*. Englewood, CO, American Society for Surgery of the Hand, 1994. 1-16.
 24. Verdan, C. Half a century of flexor tendon surgery. *J. Bone Joint Surg.* 54A:472, 1972.
 25. Doyle, J. R., and Blythe, W. F. Anatomy of the flexor tendon sheath and pulleys of the thumb. *J. Hand Surg.* 1977,2:149.
 26. Birk, D. E., Southern, J. F., Zycband, E. I., Fallon, J. T., and Trelstad, R. L. Collagen fibril bundles: A branching assembly unit in tendon morphogenesis. *Development Biol. Cell* 1989, 107: 437.
 27. Fleischmajer, R., Perlsh, J. S., and Faraggiana, T. Rotary shadowing of collagen monomers, oligomers, and fibrils during tendon fibrillogenesis. *J. Histochem. Cytochem.* 1991,39: 51.
 28. Jozsa, L., Kannus, P., Balint, J. B., and Reffy, A. Threedimensional ultrastructure of human tendons. *Acta Anat.* 1991,142: 306.
 29. Trelstad, R. L., Hayashi, K., and Gross, J. Collagen fibrillogenesis: Intermediate aggregates and suprafibrillar order. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1976,73: 4027.
 30. Birk, D. E., and Trelstad, R. L. Fibroblasts create compartments in the extracellular space where collagen polymerizes into fibrils and fibrils associate into bundles. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1985,460: 258.
 31. Birk, D. E., and Trelstad, R. L. Extracellular compartments in tendon morphogenesis: Collagen fibril , bundle , and macroaggregate formation. *J. Cell Biol.* 1986,103:231.
 32. Birdsell, D. C., Tustanoff, E. R., and Lindsay, W. K. Collagen production in regenerating tendon. *Plast. Reconstr. Surg.* 1966, 37: 504.

33. Gelberman, R. H., Vandeberg, J. S., Manske, P. R., and Akeson, W. H. The early stages of flexor tendon healing: A morphologic study of the first fourteen days. *J. Hand Surg. (Am.)* 1985,10: 776.
34. Hulmes, D. J., Bruns, R. R., and Gross, J. On the state of aggregation of newly secreted procollagen. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1983,80: 388.
35. Christiansen, D. L., Huang, E. K., and Silver, F. H. Assembly of type I collagen: Fusion of fibril subunits and the influence of fibril diameter on mechanical properties. *Matrix Biol.* 2000, 19: 409.
36. Kadler, K. E., Holmes, D. F., Trotter, J. A., and Chapman, J. A. Collagen fibril formation. *Biochem. J.* 1996,316: 1.
37. Mallein-Gerin, F., and Garrone, R. Tendon collagen fibrillogenesis is a multistep assembly process as revealed by quick-freezing and freeze-substitution. *Biol. Cell* 1990,69: 9.
38. Birk, D. E., Zycband, E. I., Winkelmann, D. A., and Trelstad, R. L. Collagen fibrillogenesis in situ: Fibril segments are intermediates in matrix assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1989,86: 4549.
39. Birk, D. E., Nurminskaya, M. V., and Zycband, E. I. Collagen fibrillogenesis in situ: Fibril segments undergo post-depositional modifications resulting in linear and lateral growth during matrix development. *Dev. Dyn.* 1995,202: 229.
40. Strickland, J. W. Flexor tendons: Acute injuries. In D. Green, R. Hotchkiss, and W. Pederson (Eds.), *Green's Operative Hand Surgery*, 4th Ed. New York: Churchill Livingstone, 1999. Pp. 1851–1897.
41. . Kadler, K. E., Holmes, D. F., Graham, H., and Starborg, T. Tip-mediated fusion involving unipolar collagen fibrils accounts for rapid fibril elongation, the occurrence of fibrillar branched networks in skin and the paucity of collagen fibril ends in vertebrates. *Matrix Biol.* 2000,19: 359.

42. Holmes, D. F., Lowe, M. P., and Chapman, J. A. Vertebrate (chick) collagen fibrils formed in vivo can exhibit a reversal in molecular polarity. *J. Mol. Biol.* 1994,235:80.
43. Holmes, D. F., Graham, H. K., and Kadler, K. E. Collagen fibrils forming in developing tendon show an early and abrupt limitation in diameter at the growing tips. *J. Mol. Biol.* 1998, 283: 1049.
44. Birdsell, D. C., Tustanoff, E. R., and Lindsay, W. K. Collagen production in regenerating tendon. *Plast. Reconstr. Surg.* 1966, 37: 504.
45. Kadler, K. E., Hojima, Y., and Prockop, D. J. Collagen fibrils in vitro grow from pointed tips in the C- to N-terminal direction. *Biochem. J.* 1990,268: 339.
46. Nurminskaya, M. V., and Birk, D. E. Differential expression of genes associated with collagen fibril growth in the chicken tendon: Identification of structural and regulatory genes by subtractive hybridization. *Arch. Biochem. Biophys.* 1998,350:1.
47. Chapman, J. A. The regulation of size and form in the assembly of collagen fibrils in vivo. *Biopolymers* 1989,28:1367.
48. Birk, D. E., and Zychband, E. Assembly of the tendon extracellular matrix during development. *J. Anat.* 1994,184:457.
49. Birk, D. E., and Mayne, R. Localization of collagen types I, III, and V during tendon development: Changes in collagen types I and III are correlated with changes in fibril diameter. *Eur. J. Cell Biol.* 1997,72:352.
50. Liu, X., Wu, H., Byrne, M., Krane, S., and Jaenisch, R. Type III collagen is crucial for collagen I fibrillogenesis and for normal cardiovascular development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997, 94: 1852.
51. Young, B. B., Gordon, M. K., and Birk, D. E. Expression of type XIV collagen in developing chicken tendons: Association with assembly and growth of collagen fibrils. *Dev. Dyn.* 2000,217: 430.
52. Manske, P. R., Gelberman, R. H., and Lesker, P. A. Flexor tendon healing. *Hand Clin.* 1985,1: 25.

53. Abrahamsson, S. Matrix metabolism and healing in the flexor tendon. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.* 1991,23 (Suppl.):1.
54. Mass, D. P., and Tuel, R. J. Participation of human superficialis flexor tendon segments in repair in vitro. *J. Orthop. Res.* 1990, 8: 21.
55. Bornstein, P., Ehrlich, H. P., and Wyke, A. W. procollagen: Conversion of the precursor to collagen by a neutral proteinase. *Science* 1972,175: 544.
58. Liu, S. H., Yang, R., Al-Shaikh, R., and Lane, J. M. Collagen in tendon, ligament, and bone healing. *Clin. Orthop.* 1995 318: 265.
59. Gelberman, R. H., Steinberg, D., Amiel, D., and Akeson, W. Fibroblast chemotaxis after tendon repair. *J. Hand Surg. (Am.)* 1991,16: 686.
60. Gelberman, R. H., Amiel, D., and Harwood, F. Genetic expression for type I procollagen in the early stages of flexor tendon healing. *J. Hand Surg. (Am.)* 17: 551, 1992. 56. Ross, M. H., Romrell, L. J., and Kaye, G. I. *Histology: A Text and Atlas*, 3rd Ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995. Pp. 94–125.
57. Molloy, Timothy; Wang, Yao; Murrell, George A C. The Roles of Growth Factors in Tendon and Ligament Healing.[Review] *Sports Medicine.* 2003,33(5):381-394.
61. Mast, B. A., Haynes, J. H., Krummel, T. M., Diegelmann, R. F., and Cohen, I. K. In vivo degradation of fetal wound hyaluronic acid results in increased fibroplasia, collagen deposition, and neovascularization. *Plast. Reconstr. Surg.* 1992,89: 503.
62. Salti, N. J., Tuel, R. J., and Mass, D. P. Effect of hyaluronic acid on rabbit profundus flexor tendon healing in vitro. *J. Surg. Res.* , 1993,55:411.
63. Abrahamsson, S., Lundborg, G., and Lohmander, L. S. Tendon healing in vivo: An experimental model. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.* 1989,23: 199.

64. Manske, P. R., Gelberman, R. H., Vande Berg, J. S., and Lesker, P. A. Intrinsic flexor-tendon repair: A morphological study in vitro. *J. Bone Joint Surg. (Am.)* 1984,66:385.
65. Piening, C., and Riederer-Henderson, M. A. Neutral metalloprotease from tendons. *J. Orthop. Res.* 1989,7: 228.
66. Packer, D. L., Dombi, G. W., Yu, P. Y., Zidel, P., and Sullivan, W. G. An in vitro model of fibroblast activity and adhesion formation during flexor tendon healing. *J. Hand Surg.* 1994, (Am.) 19: 769.
67. Birk, D. E., Zycband, E. I., Winkelmann, D. A., and Trelstad, R. L. Collagen fibrillogenesis in situ: Discontinuous segmental assembly in extracellular compartments. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1990,580: 176.
68. Kadler, K. E., Holmes, D. F., Trotter, J. A., and Chapman, J. A. Collagen fibril formation. *Biochem. J.* 1996,316:1.
69. Trelstad, R. L., and Hayashi, K. Tendon collagen fibrillogenesis: Intracellular subassemblies and cell surface changes associated with fibril growth. *Dev. Biol.* 1979,71:228.
70. Tang J, Ishii S, Usui M, Aoki M. Dorsal and circumferential sheath reconstruction for flexor sheath defect with concomitant bony injury. *J Hand Surg* 1994,19A:61–69.
71. Tang JB, Shi D, Zhang QG. Biomechanical and histologic evaluation of tendon sheath management. *J Hand Surg* 1996,21A:900–908.
72. Lindsay WK, Birch JR. The fibroblast in flexor tendon healing. *Plast Reconstr Surg* 1964,34:223–232.
73. Khan U, Occleston NL, Khaw PT, McGrouther DA. Differences in proliferative rate and collagen lattice contraction between endotenon and synovial fibroblasts. *J Hand Surg.* 1998, 23A:266–273.
74. Peterson WW, Manske PR, Dunlap J, Horwitz DS, Kahn B. Effects of various methods of restoring flexor sheath integrity on the formation of adhesions after tendon injury. *J Hand Surg* 1990,15A:48–56.
75. Matthews P, Richards H. Factors in the adherence of flexor tendon after repair: an experimental study in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1976,58B:230 –236.

76. . Seiler JG III, Chu CR, Amiel D, Woo SLY, GelbermanRH. utogenous flexor tendon grafts: biologic mechanismsfor incorporation. Clin Orthop .1997,345:239 –247.
77. Khaw PT, Occleston NL, Schultz G, Grierson I, Sherwood MB, Larkin G. Activation and suppression of fibroblast function. Eye 1994;8:188 –195.
78. Khaw PT, Doyle JW, Sherwood MB, Smith MF, McGorray S. Effects of intraoperative 5-fluorouracil or mitomycin C on glaucoma filtration surgery in rabbits.Ophthalmology 1993,100:367–372.
79. .Lanigan L, Stu"rmer J, Baez KA, Hitchings RA, Khaw PT. Single intraoperative application of 5-fluorouracil during filtration surgery: early results. Br J Ophthalmol 1994,78:33–37.
80. Goodman and Gilman's.The pharmacological Basis Of Therapeutics. 1997, fifth edition,Volume II.4.edition William & Wilkins.Pp 1205-1209.
81. Yamamoto T, Varani J, Soong HK, Lichter PR. Effect of 5-fluorouracil and mitomycin C on cultered rabbit subconjunctival fibroblasts. Ophthalmology 1990,97:1204 –1210.
82. Hill, T.T. Literature on Gelatin. Chapter in Literature Resources of the Chemical Process Industries, 1965,2nd Edn., vol. 1, American Chem. Soc., Washington.
83. Stainsby Y. Recent Advances in Gelatin and Glue Research'1998, Pergamon Press, London and New York.
84. Flexible gelatin free encapsulation material useful for pharmaceuticals, paint balls and other formulations. *Polymer*, Vol. 24 June 1983. pp. 651-666.
85. Freehan.L.M.and Beauchne.J.G.Early tensil properties of healing chicken flexor tendon.J Hand Surg. 1992,17 B, 561.
86. Hitchcock. T.F. , Candel. A.G. Light.T.R. , Bunch. W.H. ,et.al.The effect of immidiate constrained digital motion on the strength of flexor repairs in chickens. J. Hand Surg. 1987,12 A, 590.

87. Gelberman. R. H. , Woo. S. L. Y. , Amiel. D. , Horibe. S. And Lee. D. The influences of flexor sheath continuity and early motion on tendon healing in dogs. J . Hand . Surg. 1992,15 A, 69.
88. Occleston NL, Daniels JT, Tarnuzzer RW, et al. Single exposures to antiproliferatives: long-term effects on ocular fibroblast wound-healing behavior. Invest Ophthalmol Vis Sci 1997,38:1998 –2007.

